การประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรม ค่าความสัมพันธ์ ระหว่างระดับสายเลือด กับลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ การเกิดโรคเต้านมอักเสบ และเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน

นางสาวรัตติกาล สุวรรณสิงห์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
ปีการศึกษา 2554

ESTIMATION OF GENETIC PARAMETERS AND REGRESSION COEFFICIENT OF HOLSTEIN BLOOD LEVEL ON FERTILITY, MASTITIS TRAITS AND MICROSATELLITE MARKERS IN HOLSTEIN FRIESIAN CROSSBREED DAIRY COWS

Rattikan Suwannasing

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Animal Production Technology

Suranaree University of Technology

Academic Year 2011

การประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรม ค่าความสัมพันธ์ ระหว่างระดับสายเลือด กับลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ การเกิดโรคเต้านมอักเสบ และเครื่องหมาย ไมโครแซทเทลไลท์ ในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

_____

(อ. ดร.วิทธวัช โมพี)

ประธานกรรมการ

_____

(รศ. ดร.พงษ์ชาญ ณ ลำปาง)

กรรมการ (อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์)

_____

(ผศ. น. สพ. ดร.บัญชร ลิขิตเดชาโรจน์)

กรรมการ

_____

(ผศ. น. สพ. ดร.ภคนิจ คุปพิทยานันท์)

กรรมการ

_____

(อ. ดร.อมรรัตน์ โมพี)

กรรมการ

_____ _____

(ศ. ดร.ชูกิจ ลิมปีจำนงค์) (ผศ. ดร.สุเวทย์ นิงสานนท์)

รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ คณบดีสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

รัตติกาล สุวรรณสิงห์ : การประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรม ค่าความสัมพันธ์ระหว่างระดับสายเลือด กับลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ การเกิดโรคเต้านมอักเสบ และเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ ในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน (ESTIMATION OF GENETIC PARAMETERS AND REGRESSION COEFFICIENT OF HOLSTEIN BLOOD LEVEL ON FERTILITY, MASTITIS TRAITS AND MICROSATELLITE MARKERS IN HOLSTEIN FRIESIAN CROSSBREED DAIRY COWS) อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร.พงษ์ชาญ ณ ลำปาง, 68 หน้า

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้คือ 1. เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างระดับสายเลือดโคพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชียนกับลักษณะความสมบูรณ์พันธ์ และลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบ 2. เพื่อประเมินค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ และลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบ 3. เพื่อหามาร์กเกอร์ที่สามารถบ่งบอกถึงระดับสายเลือดที่แตกต่างกันได้ในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน ลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ที่ศึกษามี 4 ลักษณะคือ จำนวนวันท้องว่าง (DO) ช่วงห่างการให้ลูก (CI) จำนวนครั้งที่ผสมจนติด (NSC) และอายุเมื่อคลอดลูกตัวแรก (AFC)

จากการศึกษาพบว่า ระดับสายเลือดมีอิทธิต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์แบบไม่เป็นเส้นตรง โดยที่แม่โคที่มีระดับสายเลือดพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชียนที่ ≤50% มีความสมบูรณ์พันธุ์สูงสุด เมื่อระดับสายเลือดพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชียนสูงขึ้นเป็น >50-75% ความสมบูรณ์พันธุ์ของแม่โคลดลง แต่เมื่อระดับสายเลือดพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชียนเพิ่มขึ้นเป็น >75-87.5% ระดับความสมบูรณ์พันธุ์กลับเพิ่มสูงขึ้น และหลังจากนั้นเมื่อระดับสายเลือดพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชียนเพิ่มขึ้นเป็น >87.5-93.75% และ >93.75-100% ระดับความสมบูรณ์พันธุ์ก็กลับต่ำอีกตามลำดับ อย่างไรก็ดี ไม่พบว่าระดับสายเลือดพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชียนมีอิทธิพลต่อลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบ

พบว่า ลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์มีค่าอัตราพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.02- 0.15 และมีค่าอัตราซ้ำอยู่ในช่วง 0.09-0.162 ส่วนลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบ มีค่าอัตราพันธุกรรม และอัตราซ้ำเท่ากับ 0.02 และ 0.179 ตามลำดับ สหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่าง AFC กับ DO, CI และ NSC มีค่าเป็นลบ (-0.791 ถึง -0.195) ระหว่างลักษณะ NSC กับ DO และ CI มีค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในเชิงบวก (0.220-0.437) ระหว่างลักษณะ DO กับ CI มีค่าเป็นบวก (0.402) สหสัมพันธุ์ของลักษณะปรากฏระหว่างลักษณะ AFC กับลักษณะ DO, CI และ NSC มีค่าเป็นบวก (0.009-0.033) ระหว่างลักษณะ NSC กับ DO และ CI มีค่าเป็นบวก (0.591-0.614) และระหว่างลักษณะ DO กับ CI มีค่าเป็นบวก (0.844)

พบว่ามาร์กเกอร์ TGLA122 มีความเป็นไปได้ที่จะใช้บ่งบอกโคนมลูกผสมโฮสไตน์ฟรีเชียนที่มีระดับสายเลือด 50%

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ ลายมือชื่อนักศึกษา _____

ปีการศึกษา 2554 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม _____

RATTIKAN SUWANNASING : ESTIMATION OF GENETIC PARAMETERS AND REGRESSION COEFFICIENT OF HOLSTEIN BLOOD LEVEL ON FERTILITY, MASTITIS TRAITS AND MICROSATELLITE MARKERS IN HOLSTEIN FRIESIAN CROSSBREED DAIRY COWS. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. PONGCHAN NA-LAMPANG, Ph.D., 68 PP.

FERTILITY/MASTITIS/MICROSAELLITE/HOLSTEIN FRISIAN

The objectives of this study were: (1) to estimate the regression coefficient between Holstein Friesian (HF) blood level on fertility and mastitis traits, (2) to estimate the genetic parameters of fertility and mastitis traits, and (3) to find the markers which can detect the blood level of Holstein Friesian in crossbred dairy cows. The fertility traits studied were: Days Open (DO), Calving Interval (CI), Number of Services per Conception (NSC) and Age at First Calving (AFC).

From the study, it was found that the effect of blood level on fertility traits was not linear. Cows that were ≤50% HF had the highest fertility. When HF blood level increased to >50-75%, the fertility of the cows decreased. But when HF blood level increased to >75-87.5%, the fertility of the cows increased. Furthermore, when HF blood level increased to >87.5-93.75% and >93.75-100%, the fertility of the cows decreased accordingly. However, it was not found that HF blood level affected mastitis traits.

It was found that the heritability and repeatability estimates of fertility traits were 0.02-0.15 and 0.09-0.162, respectively. The heritability and repeatability

estimates of mastitis traits were 0.02 and 0.179, respectively. The genetic correlations between AFC and DO, CI and NSC were negative (-0.791 to -0.195), between NSC and DO and CI were positive (0.220-0.437) and between DO and CI were positive (0.402). The phenotypic correlations between AFC and DO, CI and NSC were positive (0.009-0.033), and between NSC and DO and CI were positive (0.591-0.614) and between DO and CI were positive (0.844).

It was found that TGLA122 was a possible marker to identify 50% Holstein Friesian crossbred dairy cows.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

School of Animal Production Technology Student's Signature _____

Academic Year 2011 Advisor's Signature _____

Co-advisor's Signature _____

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงได้ดี เนื่องด้วยข้าพเจ้านางสาวรัตติกาล สุวรรณสิงห์ ได้รับความช่วยเหลือเป็นอย่างดียิ่งทั้งทางด้านวิชาการ การดำเนินงาน และกำลังใจในการทำงาน จากบุคคลและกลุ่มบุคคลต่างๆ ดังนี้

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.พงษ์ชาญ ณ ลำปาง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้โอกาสทางการศึกษา ให้คำแนะนำปรึกษา ชี้แนะแนวทางในการทำงานวิจัยและดำเนินการต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อการจัดทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.อมรรัตน์ โมพี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำแนะนำปรึกษา ชี้แนะแนวทางในการแก้ไขปัญหาที่ดีระหว่างการทำงานวิจัยมาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.มนต์ชัย ดวงจินดา ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือในการวิเคราะห์ข้อมูล และพี่ๆ กลุ่มพันธุศาสตร์และการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ทุกท่านที่มีส่วนช่วยเหลือในการทำให้การวิเคราะห์ข้อมูลสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และคณาจารย์สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ทุกท่านที่ได้ถ่ายทอดวิชาความรู้ทางด้านวิชาการให้แก่ข้าพเจ้า ขอบคุณเพื่อน พี่น้องชาวผลิตสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีทุกท่านที่มีส่วนช่วยในการให้ความช่วยเหลือทั้งแรงกาย แรงใจ และให้คำแนะนำปรึกษาที่ดีเสมอมา

ขอขอบคุณฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ให้ความอนุเคราะห์ข้อมูลเพื่อใช้ในการศึกษา ตลอดจนอาคารเครื่องมือ 3 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่อนุเคราะห์สถานที่ในการทำงานวิจัย และขอขอบคุณฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนครที่ให้ความอนุเคราะห์ข้อมูลและเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อใช้ในการศึกษาครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อนิยม คุณแม่คำไมล์ พี่ น้อง ครอบครัวสุวรรณสิงห์ ของข้าพเจ้าและขอขอบคุณ นางสาวณัฐกานต์ แก้วดวงศรี ที่คอยให้การดูแล ช่วยเหลือและ ให้กำลังใจข้าพเจ้าเมื่อยามท้อแท้มาโดยตลอด ซึ่งมีส่วนสำคัญอย่างยิ่งในการทำให้ข้าพเจ้าประสบความสำเร็จในชีวิต

รัตติกาล สุวรรณสิงห์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย) ..... ก

บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ) ..... ค

กิตติกรรมประกาศ ..... จ

สารบัญ ..... ฉ

สารบัญตาราง ..... ฌ

สารบัญภาพ ..... ฎ

คำอธิบายสัญลักษณ์และอักษรย่อ ..... ฎ

บทที่

1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย 2

1.3 สมมติฐานการวิจัย 2

1.4 ข้อตกลงเบื้องต้นของการวิจัย 2

1.5 ขอบเขตของการวิจัย 2

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

2 ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4

2.1 โรคเต้านมอักเสบ (Mastitis) 4

2.1.1 โรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ (Clinical mastitis) 4

2.1.2 โรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ (Subclinical mastitis) 5

2.1.3 ปัญหาและความสูญเสียที่เกิดจากโคนมเป็นโรคเต้านมอักเสบ 5

2.2 ความสมบูรณ์พันธุ์ 7

2.2.1 ปัญหาและความสูญเสียที่เกิดจากความสมบูรณ์พันธุ์ต่ำ 8

2.3 ผลกระทบจากการเกิดโรคเต้านมอักเสบต่อความสมบูรณ์พันธุ์ 9

2.4 ผลของระดับสายเลือดต่อการเกิดโรคเต้านมอักเสบและลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ 13

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.5 พารามิเตอร์ทางพันธุกรรม (genetic parameter) 15
2.5.1 ค่าอัตราพันธุกรรม (heritability, h^2) 15
2.5.2 ค่าอัตราซ้ำ (repeatability, r) 17
2.5.3 ค่าสหสัมพันธ์ (correlation, r) 18
2.6 เทคนิคไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์ 20
2.6.1 หลักการทำงานของ Microsatellites 20
2.6.2 ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส (Polymerase chain reaction; PCR) 22
2.7 การใช้ไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์เพื่อบ่งบอกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ 22
3 วิธีดำเนินการวิจัย 24
3.1 การเก็บรวบรวมข้อมูล 24
3.1.1 ข้อมูลลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ 24
3.1.2 ข้อมูลลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบ 25
3.1.3 การเก็บตัวอย่างเลือด และสกัด Genomic DNA 25
3.1.4 การสกัด DNA ด้วยวิธี Genomic DNA Mini Kit Fresh Protocol-Blood 26
3.1.5 การศึกษาไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์ 27
3.1.6 การทำ Polymerase chain reaction (PCR) protocol 28
3.1.7 การตรวจสอบชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณ (PCR product) 30
3.2 การวิเคราะห์ผล 30
3.2.1 การวิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้น 30
3.2.2 การวิเคราะห์ค่าความสัมพันธ์ 32
3.2.3 การวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรม 33
4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลและการอภิปรายผล 37
4.1 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้น 37
4.2 ความสัมพันธ์ของระดับสายเลือดต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ และการเกิดโรคเต้านมอักเสบ 40
4.3 ค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ 42

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.3.1 ค่าอัตราพันธุกรรม 42
4.3.2 ค่าอัตราซ้ำ 44
4.3.3 ค่าสหสัมพันธ์ 45
4.4 ค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมของลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบ 46
4.4.1 ค่าอัตราพันธุกรรม 46
4.4.2 ค่าอัตราซ้ำ 46
4.5 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับสายเลือดกับไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์ 47
5 สรุปและข้อเสนอแนะ 51
5.1 สรุปผลการทดลอง 51
5.1.1 อิทธิพลของกลุ่มระดับสายเลือดต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์และการเกิดโรคเต้านมอักเสบ 51
5.1.2 ค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ 51
5.1.3 ค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมของลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบ 52
5.1.4 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับสายเลือดกับไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์ 52
5.2 ข้อเสนอแนะ 52
รายการอ้างอิง 53
ภาคผนวก 58
ภาคผนวก ก. ตัวอย่างข้อมูลที่ใช้ 59
ภาคผนวก ข. ตัวอย่าง Parameter file ที่ใช้ 63
ประวัติผู้เขียน 68

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 จำนวนโซมาติกเซลล์ต่อปริมาณการสูญเสียน้ำนม 6
2.2 เปรียบเทียบปริมาณโซมาติกเซลล์ต่อปริมาณน้ำนม 6
2.3 ปฏิกิริยาซีเอ็มทีต่อจำนวนโซมาติกเซลล์ในน้ำนมและคุณภาพน้ำนม 7
2.4 ตัวชี้วัดของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ และค่าที่เหมาะสมภายใต้สภาวะกำหนด 8
2.5 อิทธิพลของโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการต่อประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ในโคนมระยะแรก 10
2.6 ผลของจำนวนโซมาติกเซลล์ต่อความสมบูรณ์พันธุ์ในแม่โค 11
2.7 ค่าเฉลี่ยของ Somatic Cell Score: SCS ของแม่โคนมลูกผสมโฮลสไตน์แต่ละระดับสายเลือด 13
2.8 อิทธิผลของกลุ่มระดับสายเลือดโฮลสไตน์ฟรีเชียนต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ 14
2.9 ค่าเฉลี่ยลีสท์สแควร์ (least square means, LSM±SE) ของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน เมื่อวิเคราะห์ตามกลุ่มระดับสายเลือด 14
3.1 ไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์ที่ใช้ในการศึกษา 27
3.2 โครงสร้างข้อมูลของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ และการเป็นโรคเต้านมอักเสบของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน ที่ใช้ในการวิเคราะห์ 30
3.3 โครงสร้างข้อมูลของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ การเป็นโรคเต้านมอักเสบของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน เมื่อจำแนกตามกลุ่มระดับสายเลือด 31
4.1 จำนวนค่าสังเกต (N) ค่าเฉลี่ย (Mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ค่าต่ำสุด (Min) ค่าสูงสุด (Max) ของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน 36
4.2 จำนวนค่าสังเกต (N) ค่าเฉลี่ย (Mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ ของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน เมื่อจำแนกตามกลุ่มระดับสายเลือด 37

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.3 จำนวนค่าสังเกต (N) ค่าเฉลี่ย (Mean) ค่าต่ำสุด (Min) ค่าสูงสุด (Max) ค่าฐานนิยม (Mode) และค่าพิสัย (Range) ของลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบ ของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน 39

4.4 จำนวนค่าสังเกต (N) ค่าเฉลี่ย (Mean) ค่าฐานนิยม (Mode) และค่าพิสัย (Range) ของลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน เมื่อจำแนกตามกลุ่มระดับสายเลือด 39

4.5 อิทธิพล (β) ของกลุ่มระดับสายเลือดต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ และการเกิดโรคเต้านมอักเสบในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน 41

4.6 ค่าเฉลี่ยลีสท์สแควร์ (least square means, LSM±SE) ของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน เมื่อวิเคราะห์ตาม กลุ่มระดับสายเลือด 42

4.7 ค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ ในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน 44

4.8 ค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (เหนือเส้นแนวทแยง) และค่าสหสัมพันธ์ของลักษณะปรากฏ (ใต้เส้นแนวทแยง) ของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน 46

4.9 ค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมของลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบ ในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน 47

4.10 ความน่าจะเป็นที่อัลลีล และ จีโนไทป์ใดๆ มีความสัมพันธ์กับโคนมลูกผสมโฮสไตน์ฟรีเชียนที่มีระดับสายเลือด 50% ในแต่ละมาร์กเกอร์ 48

4.11 ความน่าจะเป็นที่อัลลีล และ จีโนไทป์ใดๆ มีความสัมพันธ์กับโคนมลูกผสมโฮสไตน์ฟรีเชียนที่มีระดับสายเลือด 75% ในแต่ละมาร์กเกอร์ 49

4.12 ความน่าจะเป็นที่อัลลีล และจีโนไทป์ใดๆ มีความสัมพันธ์กับโคนมโฮสไตน์ฟรีเชียนที่มีระดับสายเลือด 100% ในแต่ละมาร์กเกอร์ 49

4.13 จำนวนอัลลีล, observed heterozygosity (Ho) ของแต่มาร์กเกอร์ 50

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

2.1 ลักษณะเต้านมโคที่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ....4
2.2 เหตุการณ์ที่เกิดขึ้นในช่วงเวลาระหว่างการให้ลูกแต่ละครั้ง....9
2.3 กลไกการเกิดโรคเต้านมอักเสบที่มีผลต่อประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ในโครีดนม....12
2.4 หลักการทำงานของไมโครแซทเทลไลท์....20

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

DO	=	จำนวนวันท้องว่าง
CI	=	ช่วงห่างการให้ลูก
NSC	=	จำนวนครั้งที่ทำการผสมจนติด
AFC	=	อายุเมื่อคลอดลูกตัวแรก
MAST	=	การเกิดโรคเต้านมอักเสบ (เต้านม*วัน)
CM	=	โรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ
SCS	=	ค่าคะแนนเซลล์เม็ดเลือดขาว
SCC	=	การตรวจนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวในน้ำนม
CMT	=	ชุดทดสอบโรคเต้านมอักเสบ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในอดีตและปัจจุบัน การปรับปรุงพันธุ์โคนมของเกษตรกรในประเทศไทยนิยมใช้วิธีการปรับปรุงพันธุ์เพื่อยกระดับสายเลือดเป็นหลัก โดยคาดหวังให้โคนมมีความสามารถในการให้ผลผลิตน้ำนมได้ในปริมาณมากเพียงอย่างเดียว โดยไม่คำนึงถึงผลเสียที่อาจจะเกิดขึ้นตามมา โดยพบว่าปัญหาในปัจจุบันที่สำคัญและสร้างความสูญเสียเป็นอย่างมากในการเลี้ยงโคนม คือ ปัญหาด้านความสมบูรณ์พันธุ์ต่ำ และอัตราการเกิดโรคเต้านมอักเสบที่เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งผู้เลี้ยงโคนมในประเทศไทยส่วนใหญ่นั้นเป็นเกษตรกรรายย่อย เงินลงทุนมีไม่มากนัก การจัดการด้านต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นอาหาร โรงเรือน ความสะอาด หรือสิ่งแวดล้อมด้านอื่นๆ ยังคงอยู่ในระดับที่ไม่ดีเท่าที่ควรหรือไม่เทียบเท่ากับฟาร์มขนาดใหญ่ เพราะไม่มีความสามารถที่จะกระทำได้ และเกษตรกรรายย่อยส่วนใหญ่มักไม่ได้ทำการจดบันทึกพันธุ์ประวัติของโคนมไว้ ทำให้ไม่สามารถนำข้อมูลต่างๆ มาใช้ในการพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์โคนมได้ ปัญหาเหล่านี้จึงยังคงเป็นปัญหาที่ไม่ได้รับการแก้ไขอย่างถูกต้อง และสร้างความสูญเสียทางเศรษฐกิจเป็นจำนวนมาก จึงเป็นที่มาของแนวทางการแก้ไขปัญหาซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ประเด็นด้วยกัน คือ 1.ทำการหาความสัมพันธ์ระหว่างระดับสายเลือดที่ระดับต่างๆ กับลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ และโรคเต้านมอักเสบ เพื่อพิสูจน์ว่า การยกระดับสายเลือดที่สูงขึ้นนั้นส่งผลให้เกิดปัญหาด้านความสมบูรณ์พันธุ์และปัญหาโรคเต้านมอักเสบจริง ภายใต้สภาพการเลี้ยงโคนมในประเทศไทย และนำความรู้ที่ได้ไปใช้เป็นแนวทางในการกำหนดระดับสายเลือดที่เหมาะสม สำหรับสภาพการเลี้ยงดูของเกษตรกรรายย่อยในประเทศไทยได้ 2.การปรับปรุงพันธุกรรมโดยการคัดเลือก ซึ่งเป็นแนวทางในการแก้ไขปัญหาที่สำคัญอีกประการหนึ่ง โดยจะทำการประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมที่ใช้ในการคัดเลือกลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ และลักษณะโรคเต้านมอักเสบ เพื่อนำไปใช้เป็นฐานในการพัฒนาและวางแผนการปรับปรุงพันธุ์ และ 3.หามาร์กเกอร์ ที่สามารถบ่งบอกถึงระดับสายเลือดที่แตกต่างกันได้ในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน เนื่องจากเกษตรกรรายย่อยส่วนใหญ่ไม่ได้มีการจดบันทึกพันธุ์ประวัติของโคนมไว้อย่างชัดเจน ทำให้ไม่ทราบว่าโคนมนั้นมีระดับสายเลือดอยู่ที่ระดับใด วิธีการนี้จึงเป็นวิธีการที่จะสามารถทำให้ทราบได้ว่าโคนมตัวนั้นๆ มีระดับเลือดอยู่ในระดับใด

1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย

1.2.1 เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างระดับสายเลือดพันธุ์โฮลสไตน์กับลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ และการเกิดโรคเต้านมอักเสบ

1.2.2 เพื่อหาค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ และการเกิดโรคเต้านมอักเสบ

1.2.3 เพื่อหามาร์กเกอร์ที่สามารถบ่งบอกถึงระดับสายเลือดที่แตกต่างกันได้ ในโคนมลูก-ผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน

1.3 สมมติฐานการวิจัย

1.3.1 ระดับสายเลือดที่แตกต่างกันมีผลต่อการเกิดโรคเต้านมอักเสบ และความสมบูรณ์พันธุ์ที่แตกต่างกัน โดยโคนมโฮลสไตน์ฟรีเชียนที่มีระดับสายเลือดสูงจะมีอัตราการเกิดโรคเต้านมอักเสบสูงและมีความสมบูรณ์พันธุ์ต่ำกว่าโคที่มีระดับสายเลือดต่ำ

1.3.2 ลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์และการเกิดโรคเต้านมอักเสบ ขึ้นกับอิทธิพลของพันธุ-กรรมและสิ่งแวดล้อม

1.3.3 มาร์กเกอร์ที่เลือกมาสามารถบ่งบอกถึงระดับสายเลือดที่แตกต่างกันในโคนมลูกผสมโฮสไตน์ฟรีเชียนได้

1.4 ข้อตกลงเบื้องต้นของการวิจัย

1.4.1 โคที่เป็นโรคเต้านมอักเสบ คือโคนมที่แสดงอาการโรคเต้านมอักเสบจากการดูด้วยสายตาหรือมีประวัติการรักษา หรือมี CMT ตั้งแต่ระดับ 1 ขึ้นไป

1.4.2 โคที่ต้านทานโรคเต้านมอักเสบ คือโคนมที่ไม่แสดงอาการโรคเต้านมอักเสบหรือมี CMT ในระดับ 0 หรือ T

1.4.3 โคที่มีความสมบูรณ์พันธุ์ต่ำ คือ โคนมที่มี จำนวนครั้งต่อการผสมติด >2.5 ครั้ง อายุเมื่อคลอดลูกตัวแรก >30 เดือน ช่วงห่างการให้ลูก >14 เดือน และจำนวน วันท้องว่าง >140 วัน

1.5 ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาการประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรม และหาความสัมพันธ์ระหว่างระดับสายเลือดกับลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ ทำการศึกษาในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียนที่เลี้ยงในฟาร์มของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสานวิทยาเขตสกลนคร และฟาร์มมหาวิทยาลัย

เทคโนโลยีสุรนารี โดยใช้ข้อมูลช่วงระหว่างปี พ.ศ. 2549 ถึงปี พ.ศ. 2554 รวม 7 ปี

ศึกษาการประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรม และหาความสัมพันธ์ระหว่างระดับสายเลือดกับลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบ ทำการศึกษาในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียนที่เลี้ยงในฟาร์มของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสานวิทยาเขต โดยใช้ข้อมูลช่วงระหว่างปี พ.ศ. 2548 ถึงปี พ.ศ. 2554 รวม 8 ปี

ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับสายเลือดกับไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์ ทำการศึกษาในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียนที่เลี้ยงในฟาร์มของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสานวิทยาเขต

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.6.1 ทราบอิทธิพลของระดับเลือดที่มีผลต่อ การเกิดโรคเต้านมอักเสบ และความสมบูรณ์พันธุ์ของสัตว์ ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการกำหนดระดับสายเลือดที่เหมาะสมให้กับเกษตรกรรายย่อยได้

1.6.2 ค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมที่ประมาณได้สามารถนำไปใช้เป็นฐานในการพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์โคนมได้

1.6.3 ทราบมาร์กเกอร์ที่สามารถบ่งบอกถึงระดับสายเลือดที่แตกต่างกัน ในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียนได้

1.6.4 ได้ข้อเสนอแนะ หรือแนวทางในการแก้ไขปัญหา และปรับปรุงพันธุ์โคนมให้กับเกษตรกร

1.6.5 มีหน่วยงานที่เกี่ยวข้องนำความรู้ที่ได้ ไปส่งเสริมให้กับเกษตรกรที่เลี้ยงโคนมเป็นอาชีพให้เลี้ยงโคนมได้อย่างมีประสิทธิภาพและยั่งยืน

บทที่ 2
ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 โรคเต้านมอักเสบ (Mastitis)

หมายถึง การอักเสบของเนื้อเยื่อเต้านมไม่ว่าจะด้วยสาเหตุใดๆ ก็ตามที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเต้านม ซึ่งมีหลายปัจจัยมากมายที่ทำให้เกิดโรคเต้านมอักเสบ เช่น ขนาดของฝูงโครีดนมในฟาร์ม รูปแบบการเลี้ยง การจัดการขณะรีด อายุแม่โค ผลผลิตน้ำนม ช่วงของการให้นม ความเครียด ฤดูกาล แต่พบว่าปัจจัยหลักที่ทำให้เกิดโรคเต้านมอักเสบ คือการติดเชื้อเข้าสู่เต้านม (ธัชฎาพร ไชยคุณ, ศุภณิดา สุระวงศ์, ศุกลรัตน์ บุญยยาตรา และ วิทยา สุริยาสถาพร, 2548; ศุภณิดา สุระวงศ์, ธัชฎาพร ไชยคุณ, ศุกลรัตน์ บุญยยาตรา, ขวัญชาย เครือสุคนธ์ และ วิทยา สุริยาสถาพร, 2548) ซึ่งเกิดมาจากเชื้อแบคทีเรียทั้งจากตัวแม่โคที่เป็นโรค และสิ่งแวดล้อมรอบๆ ตัวแม่โคเอง โรคเต้านมอักเสบสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ลักษณะใหญ่ๆ ด้วยกัน คือ โรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ และโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ

2.1.1 โรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ (Clinical mastitis)

เต้านมแม่โคจะมีอาการบวมแดง ร้อน โคแสดงอาการเจ็บปวด มีอาการอักเสบชัดเจน น้ำนมเปลี่ยนลักษณะเป็นตะกอน ก้อน หรือออกใสอาจมีสีเหลืองคล้ายหนองหรือมีเลือดปน แม่โคอาจมีอาการเป็นไข้ร่วมด้วย (ภคนิจ คุปพิทยานันท์, 2550)

ภาพที่ 2.1 ลักษณะเต้านมโคที่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ
ที่มา : สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ (www.dld.go.th)

2.1.2 โรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ (Subclinical mastitis)

เป็นรูปแบบที่เกิดมากที่สุด ไม่พบอาการอักเสบของเต้านม และความผิดปกติของเต้านม แต่มีการติดเชื้อแฝงอยู่ในเต้านม เซลล์เม็ดเลือดขาวในน้ำนมจะมีจำนวนเพิ่มขึ้น เซลล์สร้างน้ำนมมีความเสียหาย การผลิตน้ำนมลดลง และอาจพัฒนาไปสู่การเป็นโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการได้ (ภคนิจ คุปพิทยานันท์, 2550)

2.1.3 ปัญหาและความสูญเสียที่เกิดจากโคนมเป็นโรคเต้านมอักเสบ

ปัญหาโรคเต้านมอักเสบเป็นปัญหาที่สำคัญที่อยู่กับเกษตรกรมาเป็นระยะเวลานาน ซึ่งยังคงประสบอยู่เสมอในปัจจุบัน และเป็นโรคที่สร้างความสูญเสียทางเศรษฐกิจเป็นอย่างมากในอุตสาหกรรมการเลี้ยงโคนม (Gill et al., 1990; Hortet and Seegers 1998; Pyorala 2002; Seegers et al.,2003 อ้างถึงใน A. Gunay and U. Gunay, 2008) โดยสามารถคิดความสูญเสียได้ดังนี้ ความสูญเสียที่เกิดจากการให้ผลผลิตน้ำนมลดลง 69.3% การทิ้งน้ำนมเนื่องจากมีการปนเปื้อนยาปฏิชีวนะหรือเชื้อโรค 11% ต้องหาโคทดแทนเร็วขึ้น 8% มูลค่าแม่โคคัดทิ้งที่ขายไปลดลง 4.9% ค่ายารักษาโรค 3.2% ค่าบริการทางสัตวแพทย์ 1.7% และค่าจ้างแรงงาน 1.9% ซึ่งสิ่งเหล่านี้ล้วนแล้วแต่ทำให้ต้นทุนการผลิตของเรานั้นสูงขึ้น (Blosser, 1979 อ้างถึงใน สุภาวดี มานะไตรนนท์ , 2545) และยังต้องเผชิญกับคุณภาพน้ำนมที่ลดต่ำลง และความเสี่ยงที่จะเกิดโรคเต้านมอักเสบเพิ่มขึ้นในอนาคตอีกด้วย ไม่เพียงเท่านั้น โรคเต้านมอักเสบนั้นยังเป็นโรคที่ใช้ยาปฏิชีวนะมากในการรักษาแต่ละระยะของการให้น้ำนม (e.g. Guterbock et al., 1993 อ้างถึงใน Heringstad, Klemetsdal and Ruane, 2000) ซึ่งปัญหาของการใช้ยาปฏิชีวนะคือ ไม่สามารถต้านทานโรคเต้านมอักเสบได้อย่างถาวร จึงเป็นการเพิ่มต้นทุน และสร้างปัญหาทางอ้อม

โครีดนมของประเทศไทยโดยประมาณ 40% เกิดปัญหาโรคเต้านมอักเสบและยังไม่ได้แก้ไข และค่าเซลล์เม็ดเลือดขาวจะมีจำนวนสูงสุดในหน้าฝน และต่ำที่สุดในหน้าหนาวของทุกปี (สาทิส ผลภาค, 2551) โดยมีผลเสียต่อผลผลิตน้ำนมซึ่งสามารถวัดความสูญเสียได้โดยตรวจนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวในน้ำนม ในรูปของค่า Somatic Cell Count (SCC) ดังตารางที่ 2.1 และตารางที่ 2.2 ที่ชี้ให้เห็นว่าจำนวนโซมาติกเซลล์ที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้โคสูญเสียความสามารถในการผลิตน้ำนมได้ลดน้อยลง ซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Hangnestam-Nielsen, Emanuelson, Berglund and Strandberg (2009) พบว่า โคที่เป็นโรคเต้านมอักเสบ (SCC = 500,000 cell/ml) จะสูญเสียน้ำนม 0.7 - 2.0 kg (3 – 9%) ของน้ำนมทั้งหมดในแม่โคท้องแรก และสูญเสียน้ำนม 1.1 – 3.7 kg (4 - 18%) ของน้ำนมทั้งหมดในแม่โคที่ท้องหลายครั้ง

ตารางที่ 2.1 จำนวนโซมาติกเซลล์ต่อปริมาณการสูญเสียน้ำนม

Somatic Cell Count (cell/ml)	ปริมาณน้ำนมที่สูญเสีย (กก./ตัว/ปี)
250,000-499,999	164
500,000-749,000	289
750,000-999,000	661
>1,000,000	770

ที่มา : King (1972) อ้างโดย สุภาวดี มานะไตรนนท์ (2545)

ค่า SCC ที่ปกติจะอยู่ในช่วง 50,000-200,000 เซลล์/มิลลิลิตร ซึ่งถือว่าโคไม่เป็นโรคเต้านมอักเสบ แต่หากค่า SCC > 200,000 เซลล์/มิลลิลิตร แสดงว่าโคเป็นโรคเต้านมอักเสบ (Juozaitiene and Juozaitis, 2005; ศุภณิดา สุระวงศ์ และคณะ, 2548)

ตารางที่ 2.2 เปรียบเทียบปริมาณโซมาติกเซลล์ต่อปริมาณน้ำนม

SCC (10^3 cells mL^{-1})	Milk yield (kg)
≤200	26.752[a]
200-500	26.365[a]
501-1000	25.791[b]
≥1000	24.401[c]

[a, b, c] Different superscripts indicate significant differences ($P<0.05$)

ที่มา : Guo, Liu, Xu and Xia (2010)

ในทางปฏิบัติเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมมักนิยมตรวจสอบโรคเต้านมอักเสบโดยการทดสอบน้ำยา CMT หรือ California Mastitis Test เนื่องจากเป็นวิธีการที่ตรวจสอบได้ง่าย และประหยัดค่าใช้จ่ายกว่านำน้ำนมไปส่งตรวจหาจำนวนโซมาติกเซลล์ ซึ่งระดับคะแนนของปฏิกิริยาน้ำยาซีเอ็มทีกับน้ำนมนั้นสามารถบ่งบอกได้ถึงจำนวนโซมาติกเซลล์ได้ และชี้ให้เห็นว่าโคแต่ละตัวนั้นเป็นโรคเต้านมอักเสบหรือไม่ ดังตารางที่ 2.3 ซึ่งค่าคะแนนปฏิกิริยาซีเอ็มทีที่เพิ่มขึ้นนั้นจะผันแปรตรงกันกับเปอร์เซนต์การเกิดโรคเต้านมอักเสบ โดยโคที่ให้ผลคะแนนซีเอ็มที ในระดับมากกว่าหรือเท่ากับ 1 ตั้งแต่หนึ่งเต้าขึ้นไป ถือเป็นแม่โคที่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ (ธัชฎาพร ไชยคุณ และคณะ, 2548)

ตารางที่ 2.3 ปฏิกิริยาซีเอ็มทีต่อจำนวนโซมาติกเซลล์ในน้ำนมและคุณภาพน้ำนม

คะแนน ปฏิกิริยาซีเอ็มที	ลักษณะที่พบ	จำนวนโซมาติกเซลล์
0	น้ำนมเป็นปกติ ไม่มีการเปลี่ยนแปลง	< 200,000
T	น้ำนมเป็นเมือกเล็กน้อย แต่ยังไม่เป็นวุ้น	200,000 – 400,000
1	น้ำนมเปลี่ยนเป็นเมือกมากขึ้น แต่ยังไม่เป็นวุ้น	400,000
2	น้ำนมเปลี่ยนเป็นวุ้นทันที แต่ยังคงมีลักษณะเหลว	800,000
3	น้ำนมเปลี่ยนเป็นวุ้นทันที และรวมตัวกันเป็นก้อนติดกับถาดตรวจ	> 5,000,000

ที่มา : Marshall and Edmondson (1993)

2.2 ความสมบูรณ์พันธุ์

ลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ มีหลายลักษณะที่สำคัญที่เป็นตัวชี้วัดถึงความสมบูรณ์พันธุ์ของแม่โคนม ดังตารางที่ 2.4 โดยจากการรวบรวมเอกสารทางวิชาการพบว่า ลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ที่นำมาใช้ในการศึกษางานวิจัย ได้แก่ NSC, DO และ CI (Verrkamp, Koenen and DeJong, 2001), DO, NSC, Day to first service (Gonzalez-Recio, Alenda, Chang, Weigel and Gianola, 2006), AFC, NSC, DO และ CI (วิชัย ทิพย์วงค์, 2547), NSC, DO และ CI (Sun, Madsen, Nielsen, Zhang, Lund and Su, 2009) ซึ่งจะเห็นได้ว่าลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ที่นิยมใช้มาก คือ Calving interval (CI), Number of service per conception (NSC) และ Average days open (DO) และมีค่าที่เหมาะสมใกล้เคียงกับ กรมปศุสัตว์, 2545 ที่กำหนดตัวชี้วัดของโคนมไทยฟรีเชียน (TF) โดยอายุเมื่อคลอดลูกตัวแรกไม่เกิน 27 เดือน อัตราการผสมติดเฉลี่ยไม่เกิน 2 ครั้ง และช่วงห่างการให้ลูกน้อยกว่า 420 วัน

ตารางที่ 2.4 ตัวชี้วัดของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ และค่าที่เหมาะสมภายใต้สภาวะกำหนด

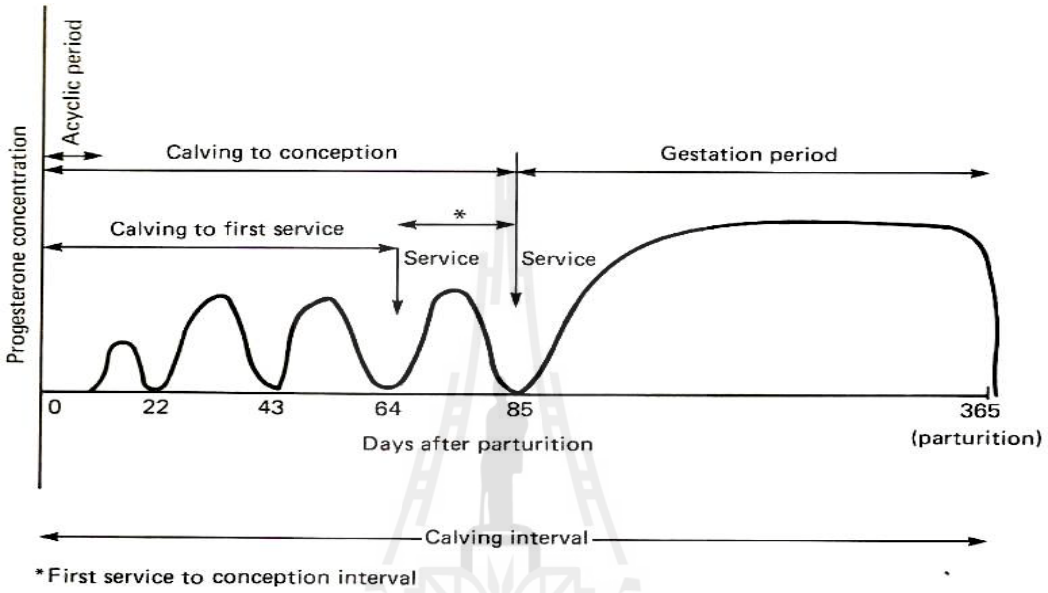
Reproductive index	Optimal value	Value Indicating serious problems
Calving interval	12.5 – 13 m	> 14 m
Average days to first observed heat	< 40 days	> 60 days
Cows observed in heat within 60 days after calving	> 90 %	< 90 %
Average days open to first breeding	45 – 60 days	> 60 days
Number of service per conception	< 1.7	> 2.5
First service conception rate of heifers	65 – 70 %	< 60 %
First service conception rate of lactating cows	50 – 60 %	< 40 %
Cows that conceived with less than 3 services	> 90 %	< 90 %
Cow with a breeding interval between 18 and 24 days	> 85 %	< 85 %
Average days open	85 – 110 days	> 140 days
Cows open more than 120 days	< 10 %	> 15 %
Dry period length	50 – 60 days	< 45 or > 70 days
Average age at first calving	24 m	< 24 or > 30 m
Abortion rate	< 5 %	> 10 %
Culling rate for reproductive problems	< 10%	> 10%

ที่มา : Wattiaux (1995) อ้างโดย วิชัย ทิพย์วงค์ (2547)

2.2.1 ปัญหาและความสูญเสียที่เกิดจากความสมบูรณ์พันธุ์ต่ำ

ภาพที่ 2.2 แสดงให้เห็นว่าโคที่มีความสมบูรณ์พันธุ์ ควรคลอดลูกทุก ๆ ปี หรือให้มีช่วงห่างการให้ลูกสั้นที่สุดโดยไม่เกิน 365 วัน ซึ่ง 208 วันจะเป็นระยะเวลาในการตั้งท้อง ดังนั้นจะเหลือเวลาในการจัดการให้แม่โคผสมติดเพียง 85 วัน แต่ด้วยสรีรวิทยาของแม่โค ที่จะต้องมีระยะเวลาให้มดลูกเข้าอู่หลังคลอด ซึ่งโดยปกติใช้เวลาประมาณ 45-60 วัน ทำให้เหลือเวลาเพียง 25-40 วันหรือ มีโอกาสในการผสมเพียง 1-2 ครั้งเท่านั้นในการทำให้โคตั้งท้อง จึงจะทำให้โคมีประสิทธิภาพในการให้ผลผลิต เพราะเมื่อโคมีความสมบูรณ์พันธุ์ต่ำ จะส่งผลกระทบทางเศรษฐกิจ ได้แก่ เพิ่มจำนวนครั้งของการผสม ลดปริมาณน้ำนมเนื่องจากจำนวนวันให้น้ำนมของช่วงชีวิตลดลง ลดปริมาณผลผลิตเนื่องจากไม่ให้ลูก เพิ่มอัตราการคัดทิ้ง และเพิ่มต้นทุนในการรักษาพยาบาล (Westell et al.,1992; Esslemont, 1993; Olori et al., 2002) อ้างโดย Sun et al. (2009) ซึ่งจากการได้

ไปสำรวจฟาร์มเกษตรกรรายย่อยพบว่า เกษตรกรยังคงประสบปัญหาด้านความสมบูรณ์พันธุ์ของแม่โคนมเป็นอย่างมาก โดยพบว่าแม่โคนั้นมีอัตราการผสมติดที่ต่ำมาก ต้องทำการผสมหลายครั้ง(> 2 ครั้ง) ถึงจะสามารถให้ลูกได้ ทำให้เกษตรกรต้องสูญเสียค่าใช้จ่ายในการเพิ่มจำนวนครั้งในการผสมแม่โคเป็นจำนวนมาก



ภาพที่ 2.2 เหตุการณ์ที่เกิดขึ้นในช่วงเวลาระหว่างการให้ลูกแต่ละครั้ง
ที่มา : Peters and ball (1995) อ้างโดย ทัศนีย์ อภิชาติสรางกูร (2544)

2.3 ผลกระทบจากการเกิดโรคเต้านมอักเสบต่อความสมบูรณ์พันธุ์

ปัญหาการเกิดโรคเต้านมอักเสบนอกจากจะสร้างความสูญเสียทางเศรษฐกิจเป็นอย่างมากแล้ว ยังสามารถส่งผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์ได้อีกด้วย เนื่องจากโรคเต้านมอักเสบมีสหสัมพันธ์ในเชิงลบกับความสมบูรณ์พันธุ์ (A. Gunay and U. Gunay, 2008) หรือแปรผกผันกัน คือ แม่โคตัวใดที่เป็นโรคเต้านมอักเสบมักจะมีความสมบูรณ์พันธุ์ลดต่ำลงไปด้วยเช่นกัน อาทิเช่น ทำให้ไข่ตกช้า การปฏิสนธิล้มเหลว ตัวอ่อนตาย เป็นต้น ซึ่งเป็นสาเหตุให้ความสมบูรณ์พันธุ์ของสัตว์นั้นต่ำลง โดยสามารถวัดจากช่วงห่างการให้ลูก ช่วงห่างระหว่างการผสมครั้งแรก และจำนวนครั้งของการผสมที่ผสมติด ดังตารางที่ 2.5 ที่แสดงถึงอิทธิพลของโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการต่อประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ในโครีดนมระยะแรก ซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Juozaitiene and Juozaitis. (2005) ในตารางที่ 2.6 ที่แสดงถึงผลของ SCC ต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในแม่โค

ตารางที่ 2.5 อิทธิพลของโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการต่อประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ในโครีดนมระยะแรก

Experimental groups	Calving to first service Interval	Calving to conception Interval	Number of services per Conception
Group I (n = 45)	95.2 ± 5.4^{b}	119.1 ± 10.6^{b}	2.1 ± 0.9^{a}
Group II (n = 45)	77.4 ± 8.2^{a}	141.7 ± 14.0^{c}	3.4 ± 0.9^{b}
Control (n = 45)	75.9 ± 6.3^{a}	94.1 ± 10.3^{a}	1.8 ± 0.8^{a}

Group I : Clinical mastitis before first service.

Group II : Clinical mastitis after first service.

$^{a, b, c}$ Different superscripts in the same column indicate significant differences ($P<0.05$)

ที่มา : A. Gunay and U. Gunay (2008)

Calving to first service interval ในโคกลุ่มที่ 1 ที่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการก่อนทำการผสมครั้งแรก จะพบว่าช่วงห่างระหว่าง คลอดลูกถึงการผสมครั้งแรกมีระยะเวลาที่ยาวนานกว่าโคในกลุ่ม control ซึ่งไม่ได้เป็นโรคเต้านมอักเสบ และยาวนานกว่าโคกลุ่มที่ 2 ที่เป็นโรคเต้านมอักเสบหลังทำการผสมครั้งแรกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่โคกลุ่มที่ 2 กับกลุ่ม control นั้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าโคที่เป็นโรคเต้านมอักเสบก่อนทำการผสมนั้นจะทำให้มีช่วงห่างระหว่างคลอดลูกถึงการผสมครั้งแรกยาวนานที่สุด

Calving to conception interval จะเห็นได้ว่าโคที่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการทั้งในกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 จะมีช่างห่างระหว่างคลอดลูกถึงการผสมติดที่สูงกว่ากลุ่มโคที่ไม่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ซึ่งทำให้เห็นชัดเจนว่าการที่โคเป็นโรคเต้านมอักเสบนั้นจะส่งผลถึงความสมบูรณ์พันธุ์ทำให้การผสมติดนั้นเกิดความล่าช้าและยืดระยะเวลาออกไป

Number of services per conception โคที่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการในโคกลุ่มที่ 2 จะมีจำนวนครั้งในการผสมสูงที่สุดและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับโคในกลุ่มที่ 1 และ control

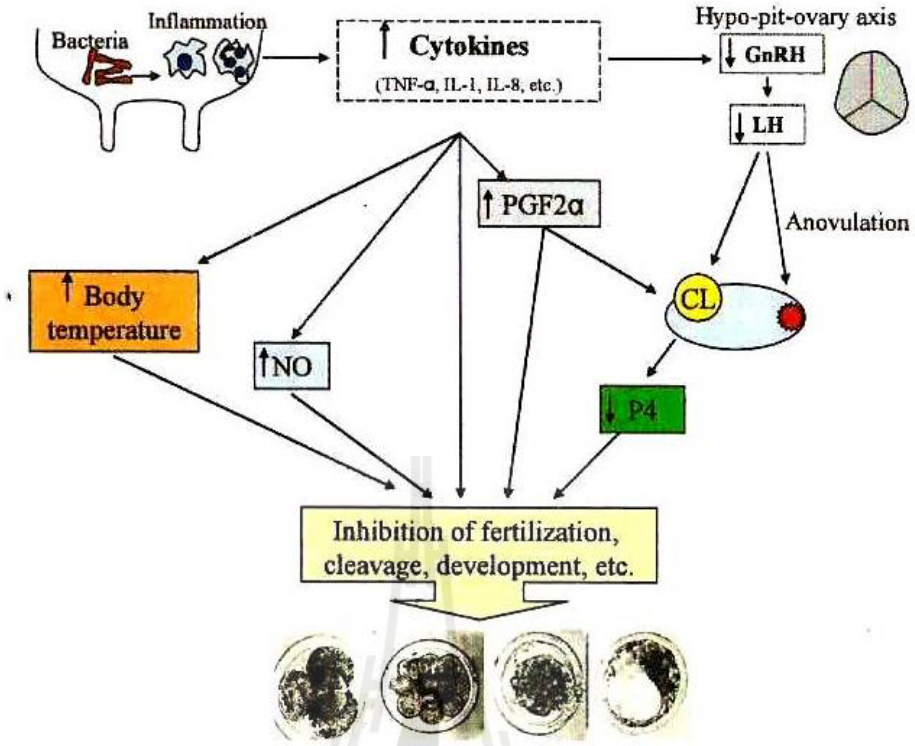
จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการที่โคเป็นโรคเต้านมอักเสบไม่ว่าจะเป็นก่อนหรือหลังทำการผสมนั้นมีผลเสียต่อประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ โดยทำให้ช่วงห่างระหว่างคลอดลูกถึงผสมครั้งแรก, ช่วงห่างระหว่างการคลอดลูกถึงผสมติด และจำนวนครั้งที่ผสมติดนั้นเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 2.6 ผลของจำนวนโซมาติกเซลล์ต่อความสมบูรณ์พันธุ์ในแม่โค

Class of SCC*10^3/ ml	Insemination times for a pregnancy			Service-period after calving, days			Calving interval, days		
	Lactation								
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
<100	1.22 ±0.03	1.24 ±0.04	1.29 ±0.06	74.2 ±3.21	84.3 ±3.01	74.3 ±2.15	360 ±2.14	365 ±1.02	362 ±1.13
101-200	1.46 ±0.04	1.33 ±0.04	1.56 ±0.03	70.9 ±1.22	90.9 ±1.88	82.8 ±2.43	362 ±1.05	376 ±1.21	363 ±1.72
201-400	1.70 ±0.06	1.78 ±0.05	1.80 ±0.04	97.8 ±2.07	97.8 ±2.24	87.9 ±1.77	379 ±0.99	378 ±2.52	389 ±2.01
401-600	2.04 ±0.02	2.12 ±0.03	2.34 ±0.05	125.5 ±3.33	127.2 ±1.73	116.7 ±2.06	387 ±0.87	383 ±2.00	401 ±1.07
601-800	2.71 ±0.01	2.61 ±0.05	2.81 ±0.03	126.8 ±2.19	126.8 ±0.99	120.9 ±1.87	394 ±1.34	404 ±1.84	409 ±2.11
>800	2.98 ±0.04	2.89 ±0.04	3.01 ±0.04	130.1 ±2.85	129.4 ±1.08	132.2 ±1.74	402 ±1.73	416 ±2.11	426 ±1.63

ที่มา : Juozaitiene and Juozaitis (2005)

ผลจากตารางที่ 2.6 แสดงให้เห็นว่า จำนวนของโซมาติกเซลล์ที่เพิ่มขึ้นมีผลต่อ จำนวนครั้งในการผสมติด วันที่ทำการผสมหลังจากคลอดลูก และช่วงห่างการให้ลูกที่เพิ่มสูงขึ้น และจำนวนของระยะการให้นมก็มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของจำนวนครั้งในการผสมติด วันที่ทำการผสมหลังจากคลอดลูก และช่วงห่างการให้ลูกเช่นกัน ชี้ให้เห็นว่าโคที่เป็นโรคเต้านมอักเสบจะมีความสมบูรณ์พันธุ์ที่ลดต่ำลง ซึ่งสามารถอธิบายกลไกการเกิดโรคเต้านมอักเสบที่มีผลต่อประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ได้ดังนี้



ภาพที่ 2.3 กลไกการเกิดโรคเต้านมอักเสบที่มีผลต่อประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ในโครีดนม
ที่มา : Chebel (2007)

เมื่อเชื้อโรคเข้าสู่เต้านม ร่างกายโคจะสร้างกลไกในการกำจัดเชื้อโรคและหลั่งสารจำพวก cytokines ออกมา ซึ่ง cytokines จะมีผลไปกระตุ้นให้อุณหภูมิร่างกายสูงขึ้นหรือว่าเป็นไข้ , กระตุ้น nitric oxide (NO) และ prostaglandin F2α (PGF2α) ให้สูงขึ้น ซึ่งทั้งสามสิ่งนี้จะ ไปยับยั้งการพัฒนาของ oocytes embryo การแบ่งตัวของเซลล์ ไปขัดขวางการปฏิสนธิ เป็นต้น นอกจากนั้น cytokines ยังไปยับยั้งการหลั่งของฮอร์โมน GnRH ทำให้ LH หลั่งน้อยลง ส่ง ผลต่อการตกไข่ (ไข่ตกช้าหรือไข่ไม่ตก) และการทำงานของ corpus luteum (CL) ที่ไปกระตุ้นให้เกิดการหลั่ง Progesterone (P4) และ PGF2α ที่เพิ่มขึ้นจะมีผลไปกระตุ้นให้เกิดการสลายตัวของ CL เมื่อ CL เกิดการสลายตัว จะส่งผลต่อการหลั่ง P4 ดังนั้นการเกิดโรคเต้านมอักเสบจะไปมีผลต่อประสิทธิภาพการสืบพันธุ์โดยการไปกระตุ้นหรือยับยั้งการหลั่งของฮอร์โมน ที่ทำให้เกิดการยับยั้งการปฏิสนธิ การแบ่งตัวของเซลล์ และการพัฒนาของ follicle oocytes embryo

2.4 ผลของระดับสายเลือดต่อการเกิดโรคเต้านมอักเสบ และลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์

ระดับสายเลือดของโคนมที่แตกต่างกัน การแสดงออกของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ และอัตราการเกิดโรคเต้านมอักเสบก็จะแตกต่างกันไป เนื่องจากความแตกต่างทางพันธุกรรมนี้จะส่งผลถึงความสามารถในการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมการเลี้ยงดูที่แตกต่างกันได้ ดังตารางที่ 2.7 ที่แสดงถึงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของโซมาติกเซลล์ในแต่ละรับดับสายเลือดของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ และ ตารางที่ 2.8 ที่แสดงถึงอิทธิผลของระดับสายเลือดต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์

ตารางที่ 2.7 ค่าเฉลี่ยของ Somatic Cell Score ของแม่โคนมลูกผสมโฮลสไตน์แต่ละระดับสายเลือด

กลุ่ม	ระดับสายเลือดโฮลสไตน์	จำนวนตัวอย่าง (บันทึก)	ค่าเฉลี่ยของ SCS $\pm$ SD
1	<75	226	8.71 $\pm$ 0.53
2	75	1,559	10.92 $\pm$ 2.71
3	>75 - <87.5	242	9.67$\pm$ 1.77
4	87.5 - <93.75	5,549	9.49 $\pm$ 1.39
5	$\geq$93.75	1,962	10.51 $\pm$ 0.73

ที่มา : กัลยา เก่งวิกย์กรรม และคณะ (2549)

จากรายงานการวิจัยของกัลยา เก่งวิกย์กรรม และคณะ (2549) (ตารางที่ 2.7)ได้รายงานไว้ว่าโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ที่มีระดับสายเลือดแตกต่างกัน การเกิดโรคเต้านมอักเสบก็จะมีความแตกต่างกัน แต่อย่างไรก็ตามรายงานวิจัยนี้เป็นเพียงรายงานที่แสดงถึงความแตกต่างของค่าเฉลี่ย somatic cell score ว่าในโคแต่ละระดับสายเลือดจะมีค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน แต่ไม่ได้แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งเราสามารถนำแนวคิดจากงานวิจัยนี้ไปพิสูจน์ต่อไปได้ว่าโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ในแต่ละระดับสายเลือดนั้นจะมีโอกาสในการเกิดโรคเต้านมอักเสบที่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกันอย่างไร

จากตารางที่ 2.8 จะเห็นได้ว่าระดับสายเลือดมีอิทธิพลต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ โดยพบว่าระดับสายเลือดที่เพิ่มสูงขึ้นจะส่งผลให้ NSC, DO และ CI เพิ่มสูงขึ้น นั่นแสดงถึงความสมบูรณ์พันธุ์ที่ลดต่ำลงซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ สมเกียรติ ประสานพานิช, ชลลดา รัตนวิเชียร และพีระ ไชยรุตต์ (2542); วิชัย ทิพย์วงค์ (2547) และ Sven Konig, Nattaphon Chongkasikit and Langholz (2005) แต่ในการศึกษาของ อังค์วรา ศรีวิชัย และณัฐพล จงกสิกิจ (2554) พบว่าระดับสายเลือดที่เพิ่มสูงขึ้นไม่ได้มีผลทำให้ความสมบูรณ์พันธุ์ลดต่ำลง (ตารางที่ 2.9)

ตารางที่ 2.8 อิทธิผลของกลุ่มระดับสายเลือดโฮลสไตน์ฟรีเชียน ต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์

ระดับสายเลือด	ลักษณะ			อ้างอิง
(%)	NSC (ครั้ง)	DO (วัน)	CI (วัน)	
50	-0.07	-8.9	-7.2	Verrkamp et al., 2001
62.5	-0.09	-8.4	-3.8	
75	-0.07	-6.5	-2.4	
87.5	-0.04	-3.4	-1.1	
100	0	0	0	

NSC = Number of services per conception, DO = Days open, CI = Calving interval

ตารางที่ 2.9 ค่าเฉลี่ยลีสท์สแควร์ (least square means, LSM±SE) ของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน เมื่อวิเคราะห์ตามกลุ่มระดับสายเลือด

ระดับ	ลักษณะ				อ้างอิง
สายเลือด (%)	AFC (เดือน)	NSC (ครั้ง)	DO (วัน)	CI (วัน)	
50	-	-	154.48±70	424.28±86	สมเกียรติ ประสานพานิช และคณะ, 2542
75	-	-	141.78±94	449.68±94	
87.5	-	-	190.43±111	457.33±102	
≤75	-	2.45±0.34	188.52±23.28	470.97±23.25	อังค์วรา ศรีวิชัย และณัฐพล จงกสิกิจ, 2554
75-87.5	-	3.02±0.21	148.52±15.84	428.21±16.16	
87.5-93.75	-	2.25±0.24	176.61±18.05	452.47±17.84	
≥93.75	-	2.15±0.47	150.38±35.52	427.92±35.11	
<75	30.4±1.2^{a}	1.6±0.1^{a}	140.7±8.9^{a}	423.2±10.2^{a}	วิชัย ทิพย์วงค์ และคณะ, 2547
75	31.7±0.6^{a}	1.8±0.1^{a}	187.2±8.0^{b}	471.4±9.6^{b}	
87.5	33.4±0.4^{b}	2.1±0.1^{b}	212.0±10.8^{c}	503.4±13.6^{c}	
93.75	35.1±1.0^{b}	2.0±0.3^{ab}	229.2±21.1^{cd}	528.1±27.6^{cd}	
<93.75	38.1±2.3^{b}	2.0±0.7^{ab}	341.0±67.1^{d}	642.6±69.8^{d}	

AFC = Age at first calving, NSC = Number of services per conception, CI = Calving interval, DO = Days open

^{abcd}ตัวอักษรที่ต่างกันบนคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$)

ตารางที่ 2.9 ค่าเฉลี่ยลีสท์สแควร์ (least square means, LSM±SE) ของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน เมื่อวิเคราะห์ตามกลุ่มระดับสายเลือด (ต่อ)

ระดับสายเลือด (%)	ลักษณะ				อ้างอิง
	AFC (เดือน)	NSC (ครั้ง)	DO (วัน)	CI (วัน)	
50-60	-	1.23 [a]	-	447.7 [a]	Sven Konig et al., 2005
61-70	-	1.43 [a]	-	425.3 [a]	
71-80	-	1.10 [a]	-	437.3 [a]	
81-90	-	2.23 [b]	-	383.0 [b]	
91-100	-	2.14 [b]	-	445.9 [a]	

AFC = Age at first calving, NSC = Number of services per conception, CI = Calving interval, DO = Days open

[abcd]ตัวอักษรที่ต่างกันบนคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$)

2.5 พารามิเตอร์ทางพันธุกรรม (genetic parameter)

2.5.1 ค่าอัตราพันธุกรรม (heritability, h^2)

ค่าอัตราพันธุกรรม เป็นสัดส่วนของค่าความแปรปรวนทางพันธุกรรม ต่อความแปรปรวนของลักษณะปรากฏทั้งหมด มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 0.0 – 1.0 หรือ 0 – 100% ค่าอัตราพันธุกรรมที่นิยมใช้ในการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ คือ ค่าอัตราพันธุกรรมแบบแคบ ที่เป็นค่าสัดส่วนของความแปรปรวนทางพันธุกรรมแบบบวกสะสม ต่อความแปรปรวนของลักษณะปรากฏทั้งหมด ซึ่งบ่งบอกถึงสัดส่วนของยีนที่สามารถถ่ายทอดลักษณะไปสู่รุ่นลูกหลานได้ ในทางทฤษฎีค่าอัตราพันธุกรรม เป็นค่าเฉพาะของประชากรนั้นๆ เนื่องจากค่าอัตราพันธุกรรมสามารถเปลี่ยนแปลงได้ตามการเปลี่ยนแปลงของทุกความแปรปรวนที่ใช้ในการคำนวณรวมทั้งการเปลี่ยนแปลงความถี่ของยีนด้วย แต่อย่างไรก็ตามพบว่าค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะเดียวกันจะมีค่าใกล้เคียงกัน แม้จะต่างประชากรและต่างสปีชีส์กันก็ตาม

ค่าอัตราพันธุกรรมสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ระดับ คือ

$h^2 < 0.2$ คือค่าอัตราพันธุกรรมอยู่ในระดับต่ำ

$0.2 \leq h^2 < 0.4$ คือค่าอัตราพันธุกรรมอยู่ในระดับปานกลาง

$h^2 \geq 0.4$ คือค่าอัตราพันธุกรรมอยู่ในระดับสูง

หากค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะใดๆ มีค่าอยู่ในระดับต่ำ หมายความว่าการคัดเลือกสัตว์จะให้ผลตอบสนองต่อการคัดเลือกช้า เนื่องจากลักษณะนั้นๆ ขึ้นอยู่กับปัจจัยของสิ่งแวดล้อมมาก แต่หากค่าอัตราพันธุกรรมอยู่ในระดับสูง การคัดเลือกสัตว์จะให้ผลตอบสนองต่อการคัดเลือกได้ดี เนื่องจากลักษณะนั้นๆ ขึ้นกับพันธุกรรมมาก โดยสามารถคำนวณค่าอัตราพันธุกรรมได้ตามสมการดังนี้ (ศุภมิตร เมฆฉาย, 2548; วิชัย ทิพย์วงค์, 2547)

$$h^2 = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_p^2} \qquad [2.1]$$

เมื่อ: σ_a^2 = ความแปรปรวนเนื่องจากพันธุกรรมแบบบวกสะสม

σ_p^2 = ความแปรปรวนเนื่องจากลักษณะปรากฏทั้งหมด

จากการรวบรวมเอกสารทางวิชาการพบว่าค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์มีค่าอยู่ในช่วง 0.01–0.07 (Veerkamp et al., 2001) ซึ่งได้แก่ อายุคลอดลูกตัวแรก (AFC), จำนวนครั้งที่ทำการผสมติด (NSC), จำนวนวันท้องว่าง (DO) และช่วงห่างการให้ลูก (CI) มีค่าอัตราพันธุกรรมดังนี้ AFC มีค่าอัตราพันธุกรรมเท่ากับ 0.08 (วิชัย ทิพย์วงค์, 2547), 0.28 (Montaldo, Castillo-Juarez, Valencia-Posadas, Cienfuegos-Rivas and Ruiz-Lopez, 2010), 0.38 (Ojango and Pollot, 2001) NSC มีค่าอัตราพันธุกรรมเท่ากับ 0.034 (Veerkamp et al., 2001), 0.028 (Sun et al., 2009), 0.04 (Gonzalez-Recio et al., 2006), 0.041 (วิชัย ทิพย์วงค์ , 2547), 0.03 (Haile-Mariam, Morton and Goddard, 2003), 0.01 (Kadarmideen, Thompson and Simm, 2000), 0.026 (Veerkamp and Beerda, 2007) DO มีค่าอัตราพันธุกรรมเท่ากับ 0.066 (Veerkamp et al., 2001), 0.028 (Kadarmideen, Thompson, Coffey and Kossaibati, 2003), 0.04 (Haile-Mariam et al., 2003), 0.05 (Gonzalez-Recio et al., 2006), 0.024 (Veerkamp and Beerda, 2007), 0.067 (Sun et al., 2009), 0.06 (Toghiani Pozveh, Shadparvar, Shahrbabak and Taromsari, 2009), 0.054 (วิชัย ทิพย์วงค์ , 2547), CI มีค่าอัตราพันธุกรรมเท่ากับ 0.036 (Veerkamp et al., 2001), 0.034 (Veerkamp and Beerda, 2007), 0.067 (Sun et al., 2009), 0.07 (Toghiani Pozveh et al. 2009), 0.051 (วิชัย ทิพย์วงค์, 2547), 0.01 (Montaldo et al., 2010)

ส่วนค่าอัตราพันธุกรรมของโรคเต้านมอักเสบได้แก่ ค่าอัตราพันธุกรรมที่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ (CM) และ Somatic cell score (SCS) หรือ Somatic cell count (SCC) ซึ่งสามารถบ่งบอกโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการได้ CM มีค่าอัตราพันธุกรรมอยู่ในช่วง

0.02-0.03 หากประเมินด้วย traditional linear methods และ 0.06-0.12 หากประเมินด้วย threshold models (Heringstad, Klemetsda and Ruane, 2000), 0.10 (Zwald, Weigel, Chang, Welper and Clay, 2004), 0.085 (Heringstad, Gianola, Chang, Odegard and Klemetsdal, 2006), 0.07 (Holtsmark, Herngstad, Madsen and Odegard, 2008), 0.03 (De Haas, Ouweltjes, Ten Napel, Windig, and De Jong, 2008), SCS มีค่าอัตราพันธุกรรมเท่ากับ 0.08-0.19 (Heringstad et al., 2000), 0.20 (Windig, Calus, Beerda and Veerkamp, 2006), 0.07 (Heringstad et al., 2006), 0.179 (กัลยา เก่งวิกย์กรรม และคณะ, 2549), 0.12 (Holtsmark et al., 2008)

2.5.2 ค่าอัตราซ้ำ (repeatability, r)

ค่าอัตราซ้ำ หรือค่า intra-class correlation (t) หมายถึงอัตราส่วนของค่าความแปรปรวนเนื่องจากยีนแบบบวกสะสม รวมกับค่าความแปรปรวนเนื่องจากสภาพแวดล้อมถาวร ต่อค่าความแปรปรวนเนื่องจากลักษณะปรากฏทั้งหมด มีค่าอยู่ระหว่าง 0 – 1 หรือ 0 – 100% มีค่าเฉพาะตัวสำหรับสัตว์ฝูงใดฝูงหนึ่ง และมักจะมีค่าสูงกว่าอัตราพันธุกรรมในลักษณะเดียวกันเสมอ เนื่องจากค่าอัตราซ้ำเป็นการรวมเอาค่าพันธุกรรมกับสิ่งแวดล้อมถาวรเข้าไว้ด้วยกัน

ค่าอัตราซ้ำสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ระดับด้วยกัน คือ

$r < 0.2$ คือค่าอัตราซ้ำอยู่ในระดับต่ำ

$0.2 \leq r < 0.4$ คือค่าอัตราซ้ำอยู่ในระดับปานกลาง

$r \geq 0.4$ คือค่าอัตราซ้ำอยู่ในระดับสูง

หากค่าอัตราซ้ำอยู่ในระดับสูง บันทึกแรกของสัตว์จะสามารถนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้ที่ดีสำหรับบันทึกครั้งถัดไปได้ แต่หากค่าอัตราซ้ำอยู่ในระดับต่ำ บันทึกแรกจะไม่สามารถนำไปใช้เป็นตัวบ่งชี้สำหรับบันทึกครั้งถัดไปได้ ซึ่งสามารถคำนวณค่าอัตราซ้ำได้ดังสมการนี้ (ศุภมิตร เมฆฉาย , 2548; วิชัย ทิพย์วงค์, 2547)

$$t = \frac{\sigma_a^2 + \sigma_c^2}{\sigma_p^2} \qquad [2.2]$$

เมื่อ: σ_a^2 = ความแปรปรวนเนื่องจากยีนแบบบวกสะสม

σ_c^2 = ความแปรปรวนเนื่องจากสภาพแวดล้อมถาวร

σ_p^2 = ความแปรปรวนเนื่องจากลักษณะปรากฏทั้งหมด

จากการรวบรวมเอกสารงานวิจัยพบว่าค่าอัตราซ้ำของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์มีดังนี้ NSC มีค่าเท่ากับ 0.071 (Hayes et al., 1992), 0.083 (Dematawewa and Berger, 1998), CI มีค่าเท่ากับ 0.06 (Ojango and Pollott, 2001), DO มีค่าเท่ากับ 0.135 (Marti and Funk, 1994), 0.115 (Dematawewa and Berger, 1998), 0.07 (Abdallah and McDaiel, 2000) อ้างโดย วิชัย ทิพย์วงค์ (2547) จากการศึกษาของ Kadarmideen et al. (2003) NSC, CI และ DO มีค่าเท่ากับ 0.07, 0.05 และ 0.047 ตามลำดับ การศึกษาของ Toghiani Pozveh et al. (2009) CI และ DO มีค่าเท่ากับ 0.09 และ 0.10 ตามลำดับ

2.5.3 ค่าสหสัมพันธ์ (correlation, r)

ค่าสหสัมพันธ์ เป็นค่าที่แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างสองลักษณะ มีได้ทั้งเชิงบวกและเชิงลบโดยอยู่ในช่วงระหว่าง -1 ถึง 1 ในการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ หากค่าสหสัมพันธ์อยู่ในรูปของสหสัมพันธ์เชิงบวก หมายถึง ลักษณะหนึ่งจะผันแปรไปในทิศทางเดียวกันกับอีกลักษณะหนึ่ง แต่หากค่าสหสัมพันธ์อยู่ในรูปของสหสัมพันธ์เชิงลบ หมายถึง ลักษณะหนึ่งจะมีผลต่ออีกลักษณะหนึ่งไปในทางทิศตรงกันข้าม

ค่าสหสัมพันธ์สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 แบบ คือ

1. ค่าสหสัมพันธ์ของลักษณะปรากฏ (phenotypic correlation, r_p)

ใช้ในการบ่งบอกระดับความสัมพันธ์ระหว่างสองลักษณะปรากฏใดๆ ที่เป็นอิทธิพลเนื่องมาจากพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อมรวมกัน

2. ค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (genetic correlation, r_g)

ใช้บ่งบอกระดับความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม หรือคุณค่าการผสมพันธุ์ (Breeding value, BV หรือ additive genes) ระหว่างสองลักษณะใดๆ ซึ่งในการปรับปรุงพันธุ์สัตว์จะให้ความสำคัญกับค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมมากกว่าค่าสหสัมพันธ์ของลักษณะปรากฏ เพราะหากสองลักษณะมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมกันสูง การคัดเลือกลักษณะหนึ่งจะทำให้อีกลักษณะหนึ่งเปลี่ยนแปลงไปด้วย

3. ค่าสหสัมพันธ์ของสิ่งแวดล้อม (environmental correlation, r_e)

ใช้บ่งบอกระดับความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งแวดล้อมที่มีอิทธิพลต่อลักษณะหนึ่งกับสิ่งแวดล้อมที่มีอิทธิผลต่ออีกลักษณะหนึ่ง

ค่าสหสัมพันธ์สามารถคำนวณได้จากสมการดังนี้ (ศุภมิตร เมฆฉาย, 2548; วิชัย ทิพย์วงค์, 2547)

$$r_{pxy} = \frac{\sigma_{p(xy)}}{\sqrt{\sigma^2_{p(x)} \cdot \sigma^2_{p(y)}}} \qquad [2.3]$$

$$r_{gxy} = \frac{\sigma_{g(xy)}}{\sqrt{\sigma^2_{g(x)} \cdot \sigma^2_{g(y)}}} \quad [2.4]$$

$$r_{exy} = \frac{\sigma_{e(xy)}}{\sqrt{\sigma^2_{e(x)} \cdot \sigma^2_{e(y)}}} \quad [2.5]$$

เมื่อ : $\sigma_{p(xy)}$ = ความแปรปรวนร่วมของลักษณะปรากฏระหว่างลักษณะ X และ Y
$\sigma_{g(xy)}$ = ความแปรปรวนร่วมทางพันธุกรรมระหว่างลักษณะ X และ Y
$\sigma_{e(xy)}$ = ความแปรปรวนร่วมของความคลาดเคลื่อนระหว่างลักษณะ X และ Y
$\sigma^2_{p(x)}$ = ความแปรปรวนทั้งหมดของลักษณะ X
$\sigma^2_{p(y)}$ = ความแปรปรวนทั้งหมดของลักษณะ Y
$\sigma^2_{g(x)}$ = ความแปรปรวนทางพันธุกรรมของลักษณะ X
$\sigma^2_{g(y)}$ = ความแปรปรวนทางพันธุกรรมของลักษณะ Y
$\sigma^2_{e(x)}$ = ความแปรปรวนของความคลาดเคลื่อนของลักษณะ X
$\sigma^2_{e(y)}$ = ความแปรปรวนของความคลาดเคลื่อนของลักษณะ Y

จากการรวบรวมเอกสารทางวิชาการพบว่าสหสัมพันธ์ระหว่างลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์กับการให้ผลผลิตมีค่าสัมพันธ์กันในเชิงลบอยู่ในช่วง -0.2 ถึง -0.5 (Hoglund, Buitenhius, Guldbrandtsen, Thomsen and Lund, 2009), DO-Production trait อยู่ในช่วง 0.63-0.7 และ NSC-Production trait อยู่ในช่วง 0.16-0.23 (Gonzalez-Recio et al., 2006), AFC-MY (-0.594), NSC-MY (-0.355), CI-MY (0.268), DO-MY (0.216) (วิชัย ทิพย์วงค์, 2547), และมีค่าสหสมพันธ์ระหว่างลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์คือ DFS-NSC (0.41), DO-NSC (0.71) และ DO-DFS (0.87) (Gonzalez-Recio et al., 2006), AFC-NSC (0.644), AFC-CI (0.362), AFC-DO (0.453), NSC-CI (-0.087), NSC-DO (0.073), CI-DO (0.995) (วิชัย ทิพย์วงค์, 2547)

ส่วนค่าสหสัมพันธ์ระหว่างโรคเต้านมอักเสบกับการให้ผลผลิตน้ำนม (MY) อยู่ในช่วง 0.24-0.55 หรือเฉลี่ย 0.43 และพบว่าโรคเต้านมอักเสบมีความสหสัมพันธ์กับค่า SCC เท่ากับ 0.7 (Heringstad et al., 2000), 0.6-0.8 (กัลยา เก่งวิกย์กรรม และคณะ, 2549) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสามารถใช้ค่า SCC มาเป็นดัชนีในการคัดเลือกโรคเต้านมอักเสบได้ มีค่าอัตราพันธุกรรมที่สูงกว่าและยังสามารถบ่งบอกโรคเต้านมอักเสบทั้งแบบแสดงอาการและไม่แสดงอาการได้ และยังพบอีกว่าโรคเต้านมอักเสบมีสหสัมพันธ์ในเชิงบวกกับลักษณะความสมบูรณ์ นั้นแสดงให้เห็นว่าโคที่มี

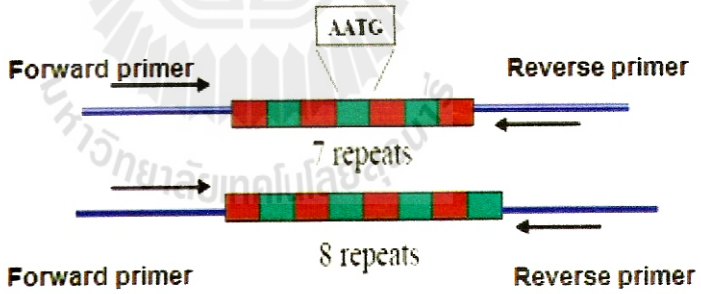
อัตราการเกิดโรคเต้านมอักเสบสูง จะมีความสมพันธุ์ที่ต่ำตามลงมาด้วยจากค่า CI, DO, NSC ที่เพิ่มขึ้นโดยมีค่าสหสัมพันธ์ดังนี้ SCC-CI (0.38), SCC-DO (0.40) (Juozaitiene and Juozaitis, 2005)

2.6 เทคนิคไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์ (Microsatellites marker technique)

ไมโครแซทเทลไลท์เป็นเครื่องหมายทางพันธุกรรม (DNA markers) ประเภท single-locus markers คือสามารถตรวจสอบได้ครั้งละหนึ่งตำแหน่ง และให้ผลเป็นcodominant markers (homozygous dominance/ heterozygous/ homozygous recessive)

2.6.1 หลักการทำงานของไมโครแซทเทลไลท์

ลำดับนิวคลีโอไทด์บนสาย DNA ที่มีจำนวนซ้ำแตกต่างกัน ตั้งแต่ 1-4 bp เช่น A, CA, GAG, CCGG และมีจำนวนซ้ำกันประมาณ 3-40 ครั้ง ซึ่งกระจายตัวอยู่ทั่วทั้ง genome ของสัตว์ โดยจำนวนซ้ำของไมโครแซทเทลไลท์ ในสัตว์แต่ละตัว มีจำนวนซ้ำไม่เท่ากัน ทำให้เกิดความผันแปรในประชากรสัตว์ ซึ่งสามารถตรวจสอบได้โดยการใช้เทคนิค PCR เพิ่มปริมาณ DNA ในบริเวณที่มีไมโครแซทเทลไลท์ ตั้งอยู่ ความยาวของส่วน PCR ที่แตกต่างกันคือ ผลสะท้อนของจำนวนซ้ำของไมโครแซทเทลไลท์ ที่ไม่เท่ากัน (ศุภมิตร เมฆฉาย, 2548)



ภาพที่ 2.4 หลักการทำงานของไมโครแซทเทลไลท์
ที่มา : จินตนา ประดุจกาญจนา (2553)

จากภาพหลักการทำงานของไมโครแซทเทลไลท์แสดง ลำดับเบส AATG ของ DNA สายแรกที่มีจำนวนซ้ำทั้งหมด 7 ซ้ำส่วน DNA สายที่สองมีจำนวนซ้ำ 8 ซ้ำ ซึ่งความแตกต่างของจำนวนซ้ำนี้จะแสดงถึงไมโครแซทเทลไลท์ที่ตำแหน่งนั้นๆ มีความหลากหลายของอัลลีล หรือจีโนไทป์ (polymorphism)

ข้อดีของไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์

- เป็นยีนที่มีความหลากหลายของลักษณะ genotype (Polymorphism) พอสมควรเพื่อใช้ในการจำแนกกลุ่มของความแตกต่างได้สะดวกขึ้น (อมรรัตน์ โมพี และมนต์ชัย ดวงจินดา , มปป)

- สามารถทำได้ง่าย โดยใช้เทคนิค PCR (อมรรัตน์ โมพี และมนต์ชัย ดวงจินดา , มปป)

- พบกระจาย อยู่ทั่วจีโนม ทั้งระหว่างยีน และภายในยีน (Abundance) (อมรรัตน์ โมพี และมนต์ชัย ดวงจินดา, มปป)

- เป็นยีนที่ไม่มีอิทธิพลต่อการแสดงออกของลักษณะปรากฏ (Phenotypic neutrality) เพื่อเป็นการกำจัดอิทธิพลอื่น ๆ ที่มีต่อค่าสังเกตออกไปให้มากที่สุด (อมรรัตน์ โมพี และมนต์ชัย ดวงจินดา, มปป)

- เป็นยีนที่มีลักษณะเป็นแบบ codominant ซึ่งหมายถึงยีนที่สามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างจีโนไทป์แบบ heterozygous และ homozygous ได้ (อมรรัตน์ โมพี และมนต์ชัย ดวงจินดา., มปป)

- เป็นยีนที่ไม่มีอิทธิพลการข่มระหว่าง locus ที่ต่างกัน (No epistasis) ซึ่งจะทำให้สามารถประมาณค่าความสัมพันธ์ระหว่างไมโครแซทเทลไลท์กับยีนที่สนใจได้ถูกต้องมากยิ่งขึ้น (อมรรัตน์ โมพี และมนต์ชัย ดวงจินดา., มปป)

- ผลที่ได้สามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์ได้เลย และสามารถทำซ้ำได้โดยผลที่ได้ไม่เปลี่ยนแปลง (จินตนา ประดุจกาญจนา, 2553)

- เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้ประโยชน์ได้หลายอย่าง ได้แก่ gene evolution phylogenetic relationship, genetic mapping, DNA fingerprinting, physical mapping และ gene cloning เป็นต้น (จินตนา ประดุจกาญจนา, 2553)

ข้อด้อยของไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์

ค่าใช้จ่ายสูงในการพัฒนา โดยเฉพาะสิ่งมีชีวิตที่ยังไม่เคยมีข้อมูลลำดับเบสใน GENBANK วิเคราะห์ผลยากถ้าต้องการรู้ขนาด allele ที่แน่นอนเนื่องจากการเกิด “stutter band” ถ้าตำแหน่งใดเป็น tetranucleotide repeats จะไม่พบกระจายทั่วจีโนมแต่จะกระจุกอยู่บริเวณ centomeres หรือ telomeres (สุวิทย์ วุฒิสุทธิเมธาวี, 2546)

2.6.2 ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส (Polymerase chain reaction; PCR)

เป็นปฏิกิริยาที่ใช้เพิ่มปริมาณ DNA ในหลอดทดลองอย่างจำเพาะเจาะจง โดยมี primer (oligonucleotide สายเดี่ยวที่มีความยาวประมาณ 20 bp) เป็นตัวกำหนดขอบเขตการเพิ่มปริมาณ ในปฏิกิริยา PCR จะต้องมีองค์ประกอบของ DNA แม่แบบ (DNA template), Primer, dNTPs, Mg^{2+} และ Taq DNA polymerase โดยอาศัยการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ เป็นตัวควบคุมการสังเคราะห์ DNA สายใหม่ ในขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิประกอบด้วย 3 ขั้นตอนคือ

1. denaturing ที่อุณหภูมิ 95ºC นาน 30 วินาที เพื่อแยกสาย double stranded DNA ออกจากกันให้เป็นสายเดี่ยว
2. annealing ที่อุณหภูมิประมาณ 60ºC นาน 30 วินาที (ขึ้นอยู่กับ primer) เพื่อให้ primer เข้าจับกับ DNA แม่แบบในตำแหน่งที่มีเบสคู่สมต่อกัน (complementary)
3. extension ที่อุณหภูมิ 72ºC นาน 60 วินาที เพื่อให้เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ Taq DNA polymerase เพื่อสังเคราะห์ DNA สายใหม่

โดยมีการทำซ้ำจำนวน 30-35 รอบ (สุภมิตร เมฆฉาย, 2548 หน้า : 160-165)

*หมายเหตุ : ปริมาตรขององค์ประกอบต่างๆ อุณหภูมิ และระยะเวลาในแต่ละขั้นตอนสามารถเปลี่ยนแปลงได้ขึ้นกับ คุณภาพของ DNA ที่สกัดได้ primer ที่ใช้ ชนิดของ Taq DNA polymerase เป็นต้น

2.7 การใช้ไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์เพื่อบ่งบอกความแตกต่างระหว่างพันธุ์

ได้มีการศึกษาหาทางนำไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์มาใช้ในการจำแนกพันธุ์โคกันบ้างแล้ว ตัวอย่างเช่น MacHugh, Shriver, Loftus, Cunningham and Bradley (1997) ใช้ไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์จำนวน 20 ตัวในการจำแนกระหว่างโคยุโรป (Bos taurus) และ โคอินเดีย (Bos indicus) Blott, Williams and Haley (1999) ใช้ไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์จำนวน 20 ตัวในการจำแนกโคพันธุ์แท้ทั้งหมด 5 พันธุ์ได้แก่ Aberdeen Angus, Charolais, Holstein-Friesian, Hereford, และ Simmental และจำแนกโคลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียนกับโคเนื้อ 4 พันธุ์ คือ Aberdeen Angus, Charolais, Hereford, และ Simmental Cervini, Henrique-Silva, Mortari and Matheucci (2006) ใช้ไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์จำนวน 10 ตัวในการจำแนกโคพันธุ์ Brazilian Nellore (Bos indicus) Cítek, Panicke, Rehout and Prochazkova (2006) ใช้ไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์จำนวน 13 ตัวในการจำแนกความแตกต่างระหว่างพันธุ์โคในยุโรปตอนกลาง ได้แก่พันธุ์ Czech Red, German Red, Czech Pied, Polish Red, Czech Black, Czech White, German Black และ German White Dalvit, De Marchi, Dal Zotto, Gervaso, Meuwissen and Cassandro (2008) ใช้ไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์จำนวน 21 ตัวในการจำแนกโคเนื้อพื้นเมืองอิตาลี 4 พันธุ์ ได้แก่ Chianina, Marchigiana,

Romagnola และ Piemontese Machado, Schuster, Martinez and Campos (2003) ใช้ไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์จำนวน 9 ตัวในการจำแนกโค 4 พันธุ์ ได้แก่ Gyr, Nellore, Guzerat และ Holstein เป็นต้น

แต่อย่างไรก็ตามพบว่าในขณะนี้ยังไม่มีรายงานวิจัยที่เกี่ยวกับการค้นพบไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์ที่สามารถบ่งบอกถึงความแตกต่างของระดับสายเลือดในโคพันธุ์ผสมได้ ดังนั้นการวิจัยในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์ที่สามารถบ่งบอกถึงระดับสายเลือดที่แตกต่างกันในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียนได้

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การเก็บรวบรวมข้อมูล

3.1.1 ข้อมูลลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์

ทำการเก็บรวบรวมข้อมูลจากฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร โดยใช้ข้อมูลช่วงระหว่างปี พ.ศ. 2549 ถึงปี พ.ศ. 2554 รวม 7 ปี ใช้ในการประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรม และหาค่าความสัมพันธ์ระหว่างระดับสายเลือดกับลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์

แฟ้มพันธุ์ประวัติ

- หมายเลขประจำตัวสัตว์
- หมายเลขประจำตัวของพ่อพันธุ์
- หมายเลขประจำตัวของแม่พันธุ์
- ปีเกิด

แฟ้มข้อมูลของความสมบูรณ์พันธุ์

- หมายเลขประจำตัวสัตว์
- ฝูงการจัดการเมื่อเกิด
- เดือนที่เกิด
- ปีที่เกิด
- ระดับสายเลือดโคพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชียน
- ระยะการให้นม (lactation)
- อายุเมื่อคลอดลูกเป็นปี
- ฤดูที่คลอดลูก
- จำนวนวันท้องว่าง (DO)
- ช่วงห่างการให้ลูก (CI)
- จำนวนครั้งที่ผสมติด (NSC)
- อายุเมื่อคลอดลูกตัวแรก (AFC)

ทำการตรวจสอบข้อมูลเพื่อดูความผิดปกติของข้อมูล แก้ไขข้อมูลที่ผิดพลาด และนำไปวิเคราะห์ผลต่อไป

3.1.2 ข้อมูลลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบ

ทำการเก็บรวบรวมข้อมูลจากฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร โดยใช้ข้อมูลช่วงระหว่างปี พ.ศ. 2548 ถึงปี พ.ศ. 2554 รวม 8 ปี ใช้ในการประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรม และหาค่าความสัมพันธ์ระหว่างระดับสายเลือดกับลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบ

แฟ้มพันธุ์ประวัติ

- หมายเลขประจำตัวสัตว์
- หมายเลขประจำตัวของพ่อพันธุ์
- หมายเลขประจำตัวของแม่พันธุ์
- ปีเกิด

แฟ้มข้อมูลของการเกิดโรคเต้านมอักเสบ

- หมายเลขประจำตัวสัตว์
- เดือนที่เกิด
- ปีที่เกิด
- ระดับสายเลือดโคพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชียน
- ระยะการให้นม (lactation)
- อายุเมื่อคลอดลูกเป็นปี
- ฤดูที่คลอดลูก
- ปริมาณน้ำนม (MY)
- การเกิดโรคเต้านมอักเสบ (เก็บจากการตรวจ CMT แล้วทำให้เป็นข้อมูลแบบต่อเนื่องโดยนำจำนวนเต้านมคูณกับจำนวนวันที่เป็นโรคเต้านมอักเสบ

ทำการตรวจสอบข้อมูลเพื่อดูความผิดปกติของข้อมูล แก้ไขข้อมูลที่ผิดพลาด และนำไปวิเคราะห์ผลต่อไป

3.1.3 การเก็บตัวอย่างเลือด และสกัด Genomic DNA

เก็บตัวอย่างเลือดจากฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร โดยแบ่งกลุ่มระดับเลือดเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ 50%, 75% และ 100% กลุ่มละ 20 ตัว ทำการเจาะเก็บตัวอย่างเลือดบริเวณโคนหางของแม่โคตัวละ 10 ml เก็บตัวอย่างเลือดไว้ในหลอดที่เติม

EDTA ไว้เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด จากนั้นนำไปเก็บที่อุณหภูมิ – 20ºC เพื่อนำไปสกัดหา Genomic DNA ต่อไป

3.1.4 การสกัด DNA ด้วยวิธี Genomic DNA Mini Kit Fresh Protocol-Blood (Geneaid)

1. RBC Lysis : ใส่ตัวอย่างเลือด 300 µl ลงในหลอด microcentrifuge ขนาด 1.5 ml เติม RBC Lysis 900 µl ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที แล้วนำไป centrifuge 2 นาทีที่ 3,000xg จากนั้นทิ้งส่วนใสด้านบนไป แล้วเติม RBC Lysis Buffer 100 µl
2. Cell Lysis : เติม Proteinase K 20 µl ผสมให้เข้ากันโดยการ vortex ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 3-5 นาที จากนั้นเติม GB buffer 200 µl ผสมให้เข้ากันโดยการ vortex แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 60ºC เป็นเวลา 15 นาที โดยทำการพลิกหลอดขึ้น-ลงทุกๆ 3 นาที ระหว่างนี้เตรียม Elution Buffer 100 µl ต่อ 1 ตัวอย่าง บ่มที่อุณหภูมิ 60ºC แล้วทั้งทิ้งไว้เพื่อใช้ในขั้นตอน DNA Elution ต่อไป
3. DNA Binding : เติม ethanol 96-100% 250 µl เพื่อให้ตัวอย่างแตกตัว และผสมให้เข้ากันทันทีโดยการ vortex เป็นเวลา 10 วินาที หากเกิดการตกตะกอนให้ดูดด้วย pipette ใส่ GD column ใน collection tube ขนาด 2 ml จากนั้นดูดสารละลายทั้งหมดลงใน GD column แล้วนำไป centrifuge ที่ 13,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที แล้วใส่ GD column ใน collection tube อันใหม่
4. Wash : เติม W1 Buffer 400 µl ลงใน GD column แล้วนำไป Centrifuge ที่ 13,000 rpm เป็นเวลา 30 วินาที ทิ้งสารละลายที่ล้างออก แล้วใส่ GD column กลับไปใน collection tube จากนั้นเติม Wash Buffer 600 µl (โดยเตรียมจาก Wash buffer : ethanol = 1 : 4) ลงใน GD column แล้วนำไป centrifuge ที่ 13,000 rpm เป็นเวลา 30 วินาที ทิ้งสารละลายที่ล้างออกและใส่ GD column กลับไปใน collection tube หลอดเดิม จากนั้นนำไป centrifuge อีกครั้ง ที่ 13,000 rpm เป็นเวลา 3 นาที เพื่อให้ GD column แห้ง
5. DNA Elution : ย้าย GD column ที่แห้งแล้วลงในหลอด microcentrifuge ขนาด 1.5 µl เติม Elution Buffer 100 µl ที่เตรียมไว้ในขั้นตอนที่ 2 ลงตรงกลางของ GD column ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 3 -5 นาที หรือจนกระทั่ง Elution Buffer ถูกดูดซึมโดย matrix จากนั้นนำไป centrifuge ที่ 13,000 rpm เป็น เวลา 30 วินาที ที่ด้านล่างของหลอดจะได้ดีเอ็นเอที่บริสุทธิ์และนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20°C

3.1.5 การศึกษาไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์

ทำการศึกษาไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์ที่สามารถบ่งบอกถึงความแตกต่างระหว่างโคพันธุ์ต่างๆ ได้จากรายงานการวิจัยต่างๆ จากนั้นคัดเลือกไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์มา 10 ตัว ดังตารางที่ 3.1 โดยทำการคัดเลือกจากเงื่อนไขดังต่อไปนี้

1. เป็นไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์ที่พบว่ามีการใช้ในหลายงานวิจัย
2. มีความหลากหลาย (Polymorphism) ของอัลลีล หรือจีโนไทป์ ซึ่งสามารถตรวจสอบข้อมูลได้จาก http://www.ncbi.nlm.nih.gov
3. มีค่าเฮทเทอโรไซโกซิตี (Heterozygosity) ที่สูง (>0.7) โดยคาดหวังว่า เมื่อนำไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์เหล่านั้นมาใช้กับประชากรนี้จะมีค่าสูงเช่นเดียวกัน
4. ไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์นั้นๆ มีความสัมพันธ์หรือควบคุมลักษณะใดๆ ที่มีความสัมพันธ์กับระดับสายเลือด สามารถตรวจสอบข้อมูลได้จาก http://www.ncbi.nlm.nih.gov

ตารางที่ 3.1 ไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์ที่ใช้ในการศึกษานี้

Markers	Chromosome	Range (bp)	Heterozygosity	Primer information
ILSTS096[1] (BOVILS96)	3	192-208	0.862	F: GTG ACC TGG AGA AGT TTT CC R: ACC ACG CTC TGA CTT GTA GC
BM4305[2]	14	148-168	0.861	F: CCA AGA CAT GAA AGC AAT CTG R: CTC TAG GTA CAT CCA TGT TGC A
TGLA126[3]	20	116-122	0.76 - 0.847	F: CTA ATT TAG AAT GAG AGA GGC TTC T R: TTG GTC TCT ATT CTC TGA ATA TTC C
TGLA122[3]	21	137-181	0.73-0.82	F: CCC TCC TCC AGG TAA ATC AGC R: AAT CAC ATG GCA AAT AGT ACA TAC
BMS2684[4]	15	80-110	0.74	F: CCA AAG TCA TTG TTG CAG C R: TGG GGA TTT GCT TCT CAG TC
BM2113[5]	2	123-143	0.59-0.73	F: GCT GCC TTC TAC CAA ATA CCC R: CTT CCT GAG AGA AGC AAC AAC
ETH225[6]	9	141-159	0.65-0.72	F: GAT CAC CTT GCC ACT ATT TCC T R: ACA TGA CAG CCA GCT GCT ACT
ETH3[7]	19	105-125	0.65-0.71	F: GGA CCT GCC TCT CCT GCA TTG G R: ACT CTG CCT GTG GCC AAG TAG G
BM1824[8]	1	178-192	0.67-0.70	F: GAG CAA GGT GTT TTT CCA ATC R: CAT TCT CCA ACT GCT TCC TTG
ETH152[9] (BM43)	5	157-169	0.51-0.70	F: AGG GAG GGT CAC CTC TGC R: CTT GTA CTC GTA GGG CAG GC

Reference: [1] Kemp et al., 1995 cited in Thomas and Anikumar, 2008

[2] Bishop et al., 1994 cited in Thomas and Anikumar, 2008

[3] Barendse et al., 1992 cited in Cervini et al., 2006; Dalvit et al., 2008

[4] Stone, 1996 cited in Machado et al., 2003

[5] Sunden et al., 1993 cited in Cervini et al., 2006; Blott et al., 1999; MacHugh et al.,1997; Karthickeyan, Sivaselvam, Selvam and Thangaraju, 2009

[6] Steffen et al., unpublished and Fries., 1992 cited in Cervini et al., 2006; Blott et al., 1999; MacHugh et al.,1997; Karthickeyan et al., 2009; Dalvit et al., 2008

[7] Solinas et al., unpublished and Fries., 1993 cited in Karthickeyan et al., 2009; Cervini et al., 2006; Dalait et al.. 2008

[8] Bishop et al., 1994 cited in Cervini et al., 2006; Dalait et al., 2008

[9] Bishop et al., 1994 cited in Blott et al., 1999; MacHugh et al.,1997; Karthickeyan et al., 2009; Dalvit et al., 2008

จากนั้นนำมาร์กเกอร์ที่ทำการคัดเลือก ไปตรวจสอบความแตกต่างของแต่ละระดับสายเลือดด้วยเทคนิค PCR

3.1.6 การทำ Polymerase chain reaction (PCR) protocol

สารที่ใช้ในกระบวนการ PCR

สาร	ปริมาตร
1.DNA Template	1µl
2.Forward primer	2 µl
3.Reverse primer	2 µl
4.DreamTaq^{Tm} Green PCR Master Mix(2X) (Fermentas Life Sciences)	12.5 µl
5.Water, nuclease-free	7.5 µl
Total volume	**25 µl**

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิ (thermo - cycle) ตามวงรอบดังนี้

ILSTS096	รอบที่ 1	94ºC เป็นเวลา 3 นาที
	รอบที่ 2-30	94ºC เป็นเวลา 1 นาที (denaturation)
		56ºC เป็นเวลา 1 นาที (annealing)
		72ºC เป็นเวลา 1 นาที (extension)
BM4305	รอบที่ 1	95ºC เป็นเวลา 3 นาที
	รอบที่ 2-30	95ºC เป็นเวลา 1 นาที (denaturation)
		57ºC เป็นเวลา 1 นาที (annealing)
		72ºC เป็นเวลา 1 นาที (extension)
TGLA126	รอบที่ 1	94ºC เป็นเวลา 3 นาที
	รอบที่ 2-30	94ºC เป็นเวลา 1 นาที (denaturation)
		56ºC เป็นเวลา 1 นาที (annealing)
		72ºC เป็นเวลา 1 นาที (extension)
TGLA122	รอบที่ 1	95ºC เป็นเวลา 15 นาที
	รอบที่ 2-30	95ºC เป็นเวลา 35 วินาที (denaturation)
		61ºC เป็นเวลา 45 วินาที (annealing)
		72ºC เป็นเวลา 1 นาที (extension)
BM2113	รอบที่ 1	94ºC เป็นเวลา 3 นาที
	รอบที่ 2-30	94ºC เป็นเวลา 1 นาที (denaturation)
		58ºC เป็นเวลา 1 นาที (annealing)
		72ºC เป็นเวลา 1 นาที (extension)
ETH225	รอบที่ 1	95ºC เป็นเวลา 3 นาที
	รอบที่ 2-30	95ºC เป็นเวลา 30 วินาที (denaturation)
		59ºC เป็นเวลา 30 วินาที (annealing)
		72ºC เป็นเวลา 1 นาที (extension)

ETH3	รอบที่ 1	95ºC เป็นเวลา 15 นาที
	รอบที่ 2-30	95ºC เป็นเวลา 45 วินาที (denaturation)
		63ºC เป็นเวลา 45 วินาที (annealing)
		72ºC เป็นเวลา 1 นาที (extension)
BM1824	รอบที่ 1	95ºC เป็นเวลา 15 นาที
	รอบที่ 2-30	95ºC เป็นเวลา 35 วินาที (denaturation)
		61ºC เป็นเวลา 45 วินาที (annealing)
		72ºC เป็นเวลา 1 นาที (extension)
BMS2684	ไม่สามารถหาระดับ thermo – cycle ที่เหมาะสมได้	

3.1.7 การตรวจสอบชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณ (PCR product)

ตรวจสอบชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้โดยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโตรฟอรีสีส (agarose gel electrophoresis) เตรียม 2% อะกาโรสเจล โดยใช้ผงอะกาโรสเจล 2 กรัม ละลายใน 0.5X TBE 100 มิลลิลิตร เทลงในแบบพิมพ์ วางหวีแล้วปล่อยให้เจล แข็งตัวจึงดึงหวีออก หยอด PCR product ที่ได้ลงในช่องของแผ่นวุ้น (well) ต่อวงจรไฟฟ้าที่มีแรงดันประมาณ 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที นำแผ่นวุ้นไปตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต

3.2 การวิเคราะห์ผล

3.2.1 การวิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้น

ตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูล และแก้ไขให้ถูกต้อง จากนั้นวิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้นของแต่ละลักษณะ ได้แก่ ค่าเฉลี่ย (Mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ค่าต่ำสุด (Minimum) และค่าสูงสุด (Maximum) ด้วยวิธี Descriptive Statistics โดยใช้โปรแกรม SPSS

ตารางที่ 3.2 โครงสร้างข้อมูลของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ และการเกิดโรคเต้านมอักเสบ ของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน ที่ใช้ในการวิเคราะห์ (ต่อ)

	ลักษณะ[1]					
	DO	**CI**	**NSC**	**AFC**	**MAST1**	**MAST2**
สัตว์ในพันธุ์ประวัติ (ตัว)	1,636	1,636	1,636	1,636	877	877
สัตว์ในบันทึก (ตัว)	241	241	241	241	171	139
ค่าสังเกต (ค่าสังเกต)	506	525	507	241	399	274
ระยะการให้นม (ระยะ)	11	11	11	-	12	12
ระดับสายเลือด (ระดับ)	5	5	5	5	5	5
กลุ่มอายุเมื่อคลอดลูก (กลุ่ม)	13	13	13	-	14	14

[1]DO = จำนวนวันท้องว่าง (วัน), CI = ช่วงห่างของการให้ลูก (วัน), NSC = จำนวนครั้งที่ผสมติด (ครั้ง), AFC = อายุเมื่อคลอดลูกตัวแรก (เดือน), MAST1 = การเกิดโรคเต้านมอักเสบรวมทั้งเป็นและไม่เป็น (เต้านม*วัน), MAST2 = การเกิดโรคเต้านมอักเสบเฉพาะตัวที่เป็น (เต้านม*วัน)

ตารางที่ 3.3 โครงสร้างข้อมูลของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ การเกิดโรคเต้านมอักเสบ ของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน เมื่อจำแนกตามกลุ่มระดับสายเลือด

ระดับสายเลือด (%)	**DO**	**CI**	**NSC**	**AFC**	**MAST1**	**MAST2**
	หน่วย : จำนวนตัว (จำนวนบันทึก)					
≤50	51 (125)	51 (114)	51 (114)	51 (51)	51 (167)	44 (112)
>50-75	32 (57)	32 (56)	32 (56)	32 (32)	51 (103)	41 (73)
>75-87.5	17 (36)	17 (33)	17 (33)	17 (17)	15 (29)	11 (16)
>87.5-93.75	35 (88)	35 (84)	35 (85)	35 (35)	7 (11)	4 (7)
>93.75-100	106 (219)	106 (219)	106 (219)	106 (106)	47 (89)	39 (66)
Total	241 (525)	241 (506)	241 (507)	241 (241)	171 (399)	139 (274)

[1]DO = จำนวนวันท้องว่าง (วัน), CI = ช่วงห่างของการให้ลูก (วัน), NSC = จำนวนครั้งที่ผสมติด (ครั้ง), AFC = อายุเมื่อคลอดลูกตัวแรก (เดือน), MAST1 = การเกิดโรคเต้านมอักเสบรวมทั้งเป็นและไม่เป็น (เต้านม*วัน), MAST2 = การเกิดโรคเต้านมอักเสบเฉพาะตัวที่เป็น (เต้านม*วัน)

3.2.2 การวิเคราะห์ค่าความสัมพันธ์

3.2.2.1 การศึกษาหาความสัมพันธ์ของระดับสายเลือดต่อลักษณะ วันท้องว่าง ช่วงห่างการให้ลูก จำนวนจำนวนครั้งที่ทำการผสมติด อายุเมื่อคลอดลูกตัวแรกโดยใช้ General linear model และประมาณค่าของอิทธิพลเนื่องจากตัวแปรคงที่ด้วยวิธี Ordinary Least Squares (OLS) ซึ่งจะประมาณค่าของ β ที่ให้ค่ากำลังสองของความคลาดเคลื่อน (ε) ของโมเดลต่ำสุดโดยใช้โปรแกรม SPSS ดังสมการด้านล่างนี้

$$y = X\beta + \varepsilon \qquad [3.3]$$

โดย $E(\varepsilon) = 0$ และ $V(\varepsilon) = I\sigma_e^2$

เมื่อ : y = ค่าสังเกตของลักษณะจำนวนวันท้องว่าง ช่วงห่างการให้ลูก จำนวนครั้งที่ทำการผสมติด อายุเมื่อคลอดลูกตัวแรก

β = อิทธิพลเนื่องจากปัจจัยคงที่ ได้แก่ ปีที่เกิด, ฤดูกาลที่เกิด, ระยะการให้นม (lactation) (AFC ไม่ใส่ปัจจัยนี้), ระดับสายเลือด, ฝูงการจัดการ และฤดูกาลที่คลอด

ε = อิทธิพลเนื่องจากความคลาดเคลื่อน

X = incidence matrix ที่แสดงการปรากฏของอิทธิพลเนื่องจากปัจจัยคงที่ในแต่ละค่าสังเกตตามลำดับ

3.2.2.2 การศึกษาหาความสัมพันธ์ของระดับสายเลือดต่อ การเกิดโรคเต้านมอักเสบโดยใช้ General linear model และประมาณค่าของอิทธิพลเนื่องจากตัวแปรคงที่ด้วยวิธี Ordinary Least Squares (OLS) ซึ่งจะประมาณค่าของ β ที่ให้ค่ากำลังสองของความคลาดเคลื่อน (ε) ของโมเดลต่ำสุดโดยใช้โปรแกรม SPSS ดังสมการด้านล่างนี้

$$y = X\beta + \varepsilon \qquad [3.4]$$

โดย $E(\varepsilon) = 0$ และ $V(\varepsilon) = I\sigma_e^2$

เมื่อ : y = ค่าสังเกตของลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบรวมทั้งเป็นและไม่เป็น (เต้านม*วัน) และค่าสังเกตของลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบเฉพาะตัวที่เป็น (เต้านม*วัน)

β = อิทธิพลเนื่องจากปัจจัยคงที่ ได้แก่ ปีที่เกิด, ฤดูกาลที่เกิด, ระยะการให้นม (lactation), ระดับสายเลือด, ฤดูกาลที่คลอด, อายุเมื่อคลอด และปริมาณน้ำนม

ε = อิทธิพลเนื่องจากความคลาดเคลื่อน

X = incidence matrix ที่แสดงการปรากฏของอิทธิพลเนื่องจากปัจจัยคงที่ในแต่ละค่าสังเกตตามลำดับ

3.2.2.3 การศึกษาหาความสัมพันธ์ของระดับสายเลือดกับไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์ ด้วยวิธีการ Binary Logistic Regression Analysis โดยใช้โปรแกรม SPSS ดังสมการ

$$P_i = \frac{e^{ni}}{1+e^{ni}} \qquad [3.5]$$

$$ni = \log\left[\frac{Pi}{1-Pi}\right] = \beta_0 + \beta_1 X_1$$

เมื่อ : P_i = ความน่าจะเป็นของอัลลีลใดๆ ที่มีความสัมพันธ์กับโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียนในระดับสายเลือดต่างๆ

β_0 = overall mean

β_1 = อิทธิพลเนื่องจากไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์ทั้ง 10 ตัว

X = incidence matrix ที่แสดงการปรากฏของอิทธิพลเนื่องจากอัลลีล จีโนไทป์ของไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์ทั้ง 10 ลำดับ

3.2.3 การวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรม

3.2.3.1 การประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ ได้แก่ อัตราพันธุกรรม (heritability, h^2), อัตราซ้ำ (repeatability, t) และค่าสหสัมพันธ์ (genetic correlation, r_g) โดยจะวิเคราะห์องค์ประกอบของความแปรปรวนทางพันธุกรรมด้วยวิธี Restricted Maximum Likelihood (REML) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป BLUP90 - Dairy Pak 3.0 (Monchai Duangjinda, Misztal and Tsuuta, 2007) ด้วยวิธีการวิเคราะห์รวมด้วยโมเดลต่างกัน (Multi-trait Analysis-Different Model) ด้วยตัวแบบ Animal model with repeated record และ Simple Animal model (มนต์ชัย ดวงจินดา, 2548) ค่าความแปรปรวนที่ได้จะถูกนำไปใช้ในการประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมต่อไป

โมเดลที่ใช้ในการวิเคราะห์

$$
\begin{aligned}
y_1 &= X_1\beta_1 + Z_1a_1 + W_1c_1 + \varepsilon_1 \\
y_2 &= X_2\beta_2 + Z_2a_2 + W_2c_2 + \varepsilon_2 \\
y_3 &= X_3\beta_3 + Z_3a_3 + W_3c_3 + \varepsilon_3 \\
y_4 &= X_4\beta_4 + Z_4a_4 + \varepsilon_1
\end{aligned}
\qquad [3.1]
$$

แสดงในรูปเมตริกซ์

$$
\begin{bmatrix} y_1 \\ y_2 \\ y_3 \\ y_4 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X_1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & X_2 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & X_3 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & X_4 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \beta_1 \\ \beta_2 \\ \beta_3 \\ \beta_4 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} Z_1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & Z_2 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & Z_3 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & Z_4 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} a_1 \\ a_2 \\ a_3 \\ a_4 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} W_1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & W_2 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & W_3 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} c_1 \\ c_2 \\ c_3 \\ 0 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} \varepsilon_1 \\ \varepsilon_2 \\ \varepsilon_3 \\ \varepsilon_4 \end{bmatrix}
$$

$$
V\begin{bmatrix} a_1 \\ a_2 \\ a_3 \\ a_4 \\ c_1 \\ c_2 \\ c_3 \\ \varepsilon_1 \\ \varepsilon_2 \\ \varepsilon_3 \\ \varepsilon_4 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix}
A\sigma^2_{a11} & A\sigma_{a12} & A\sigma^2_{a13} & A\sigma^2_{a14} & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
A\sigma_{a21} & A\sigma^2_{a22} & A\sigma_{a23} & A\sigma_{a24} & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
A\sigma_{a31} & A\sigma_{a32} & A\sigma^2_{a33} & A\sigma_{a34} & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
A\sigma_{a41} & A\sigma_{a42} & A\sigma_{a43} & A\sigma^2_{a44} & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\
0 & 0 & 0 & 0 & I\sigma^2_{c11} & I\sigma_{c12} & I\sigma_{c13} & 0 & 0 & 0 & 0 \\
0 & 0 & 0 & 0 & I\sigma_{c21} & I\sigma^2_{c22} & I\sigma_{c23} & 0 & 0 & 0 & 0 \\
0 & 0 & 0 & 0 & I\sigma_{c31} & I\sigma_{c32} & I\sigma^2_{c33} & 0 & 0 & 0 & 0 \\
0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & I\sigma^2_{e11} & I\sigma_{e12} & I\sigma_{e13} & I\sigma_{e14} \\
0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & I\sigma_{e21} & I\sigma^2_{e22} & I\sigma_{e23} & I\sigma_{e24} \\
0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & I\sigma_{e31} & I\sigma_{e32} & I\sigma^2_{e33} & I\sigma_{e34} \\
0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & I\sigma_{e41} & I\sigma_{e42} & I\sigma_{e43} & I\sigma^2_{e44}
\end{bmatrix}
$$

เมื่อ : y_1, y_2, y_3, y_4 = ค่าสังเกตของลักษณะ จำนวนวันท้องว่าง ช่วงห่างการให้ลูก จำนวนครั้งที่ทำการผสมติด และอายุเมื่อคลอดลูกตัวแรก ตามลำดับ

$\beta_1, \beta_2, \beta_3$ = อิทธิพลเนื่องจากปัจจัยคงที่ ได้แก่ ปีที่เกิด, ฤดูกาลที่เกิด, ฝูง การจัดการ, ระยะการให้นม (lactation), ระดับสายเลือด, อายุเมื่อคลอดลูก และฤดูกาลที่คลอด

β_4 = อิทธิพลเนื่องจากปัจจัยคงที่ ได้แก่ ปีที่เกิด, ฤดูกาลที่เกิด, ฝูง การจัดการ, ระดับสายเลือด และฤดูกาลที่คลอด

a = อิทธิพลเนื่องจากตัวสัตว์

p = อิทธิพลเนื่องจากสิ่งแวดล้อมถาวร

ε = อิทธิพลเนื่องจากความคลาดเคลื่อน

X, Z, W = incidence matrix ที่แสดงการปรากฏของอิทธิพลเนื่องจากปัจจัยคงที่, ปัจจัยจากตัวสัตว์ และปัจจัยเนื่องจากสิ่งแวดล้อมถาวร ในแต่ละค่าสังเกตตามลำดับ

A = numerator relationship matrix ระหว่างตัวสัตว์

σ_a^2 = ความแปรปรวนเนื่องจากตัวสัตว์

σ_p^2 = ความแปรปรวนเนื่องจากสภาพแวดล้อมถาวร

σ_e^2 = ความแปรปรวนเนื่องจากความคลาดเคลื่อน

3.2.3.2 การประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมของลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบ ได้แก่ อัตราพันธุกรรม (heritability, h^2), อัตราซ้ำ (repeatability, t) โดยจะวิเคราะห์องค์ประกอบของความแปรปรวนทางพันธุกรรมด้วยวิธี Restricted Maximum Likelihood (REML) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป BLUP90 - Dairy Pak 3.0 (Duangjinda et al., 2007) ด้วยตัวแบบ Animal model with repeated record (มนต์ชัย ดวงจินดา, 2548) ค่าความแปรปรวนที่ได้จะถูกนำไปใช้ในการประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมต่อไป

โมเดลที่ใช้ในการวิเคราะห์

$$y = X\beta + Za + Wp + \varepsilon \qquad [3.2]$$

เมื่อ $V\begin{bmatrix} a \\ p \\ \varepsilon \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} A\sigma_a^2 & 0 & 0 \\ 0 & I\sigma_p^2 & 0 \\ 0 & 0 & I\sigma_e^2 \end{bmatrix}$

เมื่อ : y = ค่าสังเกตของลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบรวมทั้งเป็นและไม่เป็น (เต้านม*วัน)

β = อิทธิพลเนื่องจากปัจจัยคงที่ ได้แก่ ปีที่เกิด, ฤดูกาลที่เกิด, ระยะการให้นม (lactation), ระดับสายเลือด, อายุเมื่อคลอดลูก, ฤดูกาลที่คลอด และปริมาณน้ำนม

a = อิทธิพลเนื่องจากตัวสัตว์

p = อิทธิพลเนื่องจากสิ่งแวดล้อมถาวร

ε = อิทธิพลเนื่องจากความคลาดเคลื่อน

X, Z, W = incidence matrix ที่แสดงการปรากฏของอิทธิพลเนื่องจากปัจจัยคงที่, ปัจจัยจากตัวสัตว์ และปัจจัยเนื่องจากสิ่งแวดล้อมถาวร ในแต่ละค่าสังเกตตามลำดับ

A = numerator relationship matrix ระหว่างตัวสัตว์

σ_a^2 = ความแปรปรวนเนื่องจากตัวสัตว์

σ_p^2 = ความแปรปรวนเนื่องจากสภาพแวดล้อมถาวร

σ_e^2 = ความแปรปรวนเนื่องจากความคลาดเคลื่อน

โดยมีรูปแบบ Henderson's Mixed model Equation ดังนี้

$$\begin{bmatrix} X'X & X'Z & X'W \\ Z'X & Z'Z+\alpha A^{-1} & Z'W \\ W'X & W'Z & W'W+\gamma I \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \hat{\beta} \\ \hat{a} \\ \hat{p} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'y \\ Z'y \\ W'y \end{bmatrix}$$

เมื่อ $\alpha = \frac{\sigma_e^2}{\sigma_a^2}, \gamma = \frac{\sigma_e^2}{\sigma_p^2}$

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูลและการอภิปรายผล

4.1 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้น

ข้อมูลที่ใช้ในการศึกษาลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์มีทั้งหมด 546 บันทึก ซึ่งประกอบไปด้วยค่าสังเกตจากลักษณะ DO, CI, NSC และ AFC จำนวน 506, 525, 507 และ 241 ค่าสังเกตตามลำดับ โดยมีค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 185.35±102.67, 457.25±107.46, 2.35±1.59 และ 31.06±6.01 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1)

ตารางที่ 4.1 จำนวนค่าสังเกต (N) ค่าเฉลี่ย (Mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ค่าต่ำสุด (Min) ค่าสูงสุด (Max) ของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ ของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน

	DO	**CI**	**NSC**	**AFC**
N	506	525	507	241
Mean	185.35	457.25	2.35	31.06
SD	102.67	107.46	1.59	6.01
Min	37	224	1	20
Max	524	800	11	60

DO = จำนวนวันท้องว่าง (วัน), CI = ช่วงห่างของการให้ลูก (วัน), NSC = จำนวนครั้งที่ผสมติด (ครั้ง), AFC = อายุเมื่อคลอดลูกตัวแรก (เดือน)

เมื่อจำแนกตามกลุ่มระดับสายเลือดของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน เพื่อดูลักษณะข้อมูลพบว่า DO, CI, NSC มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วงระหว่าง 150.10-200.08, 424.19-479.23, 1.90-2.82 ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าทั้ง 3 ลักษณะนี้มีแนวโน้มค่าเฉลี่ยที่สูงขึ้นตามกลุ่มระดับสายเลือดที่เพิ่มขึ้น ส่วนลักษณะ AFC นั้น มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วงระหว่าง 29.78-32.89 ซึ่งยังเห็นแนวโน้มไม่ชัดเจนนัก (ตารางที่ 4.2)

ตารางที่ 4.2 จำนวนค่าสังเกต (N) ค่าเฉลี่ย (Mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ ของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน เมื่อจำแนกตามกลุ่มระดับสายเลือด

ลักษณะ[1]		ระดับสายเลือด (%)				
		≤50	**>50-75**	**>75-87.5**	**>87.5-93.75**	**>93.75-100**
DO	N	114	56	33	84	219
	Mean	150.10	167.80	197.33	201.77	200.08
	SD	98.45	110.66	113.22	99.81	97.76
CI	N	125	57	36	88	219
	Mean	424.19	443.56	454.06	479.23	471.32
	SD	100.93	118.49	99.55	112.23	103.29
NSC	N	144	56	33	85	219
	Mean	1.90	2.39	2.42	2.82	2.37
	SD	1.19	1.76	1.64	2.03	1.48
AFC	N	51	32	17	35	106
	Mean	29.99	29.78	32.44	32.89	31.03
	SD	4.78	6.09	7.32	6.90	5.80

[1] DO = จำนวนวันท้องว่าง (วัน), CI = ช่วงห่างของการให้ลูก (วัน), NSC = จำนวนครั้งที่ผสมติด (ครั้ง), AFC = อายุเมื่อคลอดลูกตัวแรก (เดือน)

ข้อมูลที่ใช้ในการศึกษาลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบเมื่อนำมาวิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้น พบว่าเป็นข้อมูลที่มีการกระจายแบบไม่ปกติ จึงไม่สามารถรายงานค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานได้ โดยพบว่า MAST1 มีจำนวนค่าสังเกต ค่าเฉลี่ย ค่าฐานนิยม และค่าพิสัย เท่ากับ 399, 30.85, 0, 344 ตามลำดับ และ MAST2 มีจำนวนค่าสังเกต ค่าเฉลี่ย ค่าฐานนิยม และค่าพิสัย เท่ากับ 274, 44.92, 2, 344 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.3)

ตารางที่ 4.3 จำนวนค่าสังเกต (N) ค่าเฉลี่ย (Mean) ค่าต่ำสุด (Min) ค่าสูงสุด (Max) ค่าฐานนิยม (Mode) และ ค่าพิสัย (Range) ของลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน (ต่อ)

	MAST1	**MAST2**
N	399	274
Mean	30.85	44.92
Min	0	2
Max	344	344
Mode	0	6
Range	344	342

MAST1 = การเกิดโรคเต้านมอักเสบรวมทั้งเป็นและไม่เป็น (เต้านม*วัน), MAST2 = การเกิดโรคเต้านมอักเสบเฉพาะตัวที่เป็น (เต้านม*วัน)

เมื่อจำแนกตามกลุ่มระดับสายเลือดของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน เพื่อดูลักษณะข้อมูลพบว่า ในแต่ละกลุ่มระดับสายเลือดมีจำนวนสัตว์ที่แตกต่างกันไป และมีการกระจายของข้อมูลที่ไม่เป็นแบบปกติ โดย MAST1 และ MAST2 มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วงระหว่าง 16-34.76 และ 25.14-47.52 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4)

ตารางที่ 4.4 จำนวนค่าสังเกต (N) ค่าเฉลี่ย (Mean) ค่าต่ำสุด (Min) ค่าสูงสุด (Max) ค่าฐานนิยม (Mode) และ ค่าพิสัย (Range) ของลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบ ของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน เมื่อจำแนกตามกลุ่มระดับสายเลือด

ลักษณะ[(1)]		**ระดับสายเลือด (%)**				
		≤50	**>50-75**	**>75-87.5**	**>87.5-93.75**	**>93.75-100**
MAST1	N	51	51	15	7	47
	Mean	28.93	33.68	25.45	16	34.76
	Min	0	0	0	0	0
	Max	280	344	160	72	263
	Mode	0	0	0	0	0
	Range	280	344	160	72	263

MAST1 = การเกิดโรคเต้านมอักเสบรวมทั้งเป็นและไม่เป็น (เต้านม*วัน), MAST2 = การเกิดโรคเต้านมอักเสบเฉพาะตัวที่เป็น (เต้านม*วัน)

ตารางที่ 4.4 จำนวนค่าสังเกต (N) ค่าเฉลี่ย (Mean) ค่าต่ำสุด (Min) ค่าสูงสุด (Max) ค่าฐานนิยม (Mode) และ ค่าพิสัย (Range) ของลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบ ของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน เมื่อจำแนกตามกลุ่มระดับสายเลือด (ต่อ)

ลักษณะ[1]		ระดับสายเลือด (%)				
		≤50	>50-75	>75-87.5	>87.5-93.75	>93.75-100
MAST2	N	44	42	11	4	39
	Mean	43.71	47.52	46.13	25.14	46.88
	Min	2	2	5	3	4
	Max	280	344	160	72	263
	Mode	6	12	5	-	22
	Range	278	342	155	69	259

MAST1 = การเกิดโรคเต้านมอักเสบรวมทั้งเป็นและไม่เป็น (เต้านม*วัน), MAST2 = การเกิดโรคเต้านมอักเสบเฉพาะตัวที่เป็น (เต้านม*วัน)

4.2 ความสัมพันธ์ของระดับสายเลือดต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ และการเกิดโรคเต้านมอักเสบ

จากการศึกษาอิทธิพลของกลุ่มระดับสายเลือดต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ (ตารางที่ 4.5) พบว่าระดับสายเลือดโคโฮลสไตน์ฟรีเชียนที่เพิ่มสูงขึ้นส่งอิทธิพลต่อลักษณะ DO, CI และ NSC ที่เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งแสดงถึงความสมบูรณ์พันธุ์ที่ลดต่ำลง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Veerkamp et al. (2001) ที่พบว่าระดับสายเลือดโคโฮลสไตน์ฟรีเชียนที่เพิ่มสูงขึ้นส่งอิทธิพลต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ที่ลดต่ำลง (ตารางที่ 2.8) โดยในการศึกษานี้พบว่า ระดับสายเลือดมีอิทธิต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์แบบไม่เป็นเส้นตรง โดยที่แม่โคที่มีระดับสายเลือดพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชียนที่ ≤50% มีความสมบูรณ์พันธุ์สูงสุด เมื่อระดับสายเลือดพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชียนสูงขึ้นเป็น >50-75% ความสมบูรณ์พันธุ์ของแม่โคลดลง แต่เมื่อระดับสายเลือดพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชียนเพิ่มขึ้นเป็น >75-87.5% ระดับความสมบูรณ์พันธุ์กลับเพิ่มสูงขึ้น และหลังจากนั้นเมื่อระดับสายเลือดพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชียนเพิ่มขึ้นเป็น>87.5-93.75% และ>93.75-100% ระดับความสมบูรณ์พันธุ์ก็กลับต่ำอีกตามลำดับส่วนลักษณะAFC นั้น โคโฮลสไตน์ฟรีเชียนที่มีระดับสายเลือด>50-75% ส่งผลให้AFC เพิ่มสูงขึ้น แต่ในกลุ่มระดับเลือดอื่นๆ จะส่งผลให้AFC ลดต่ำลง โดยโคโฮลสไตน์ฟรีเชียนที่มีระดับสายเลือด>75-87.5% ส่งผลให้ AFC ลดต่ำลงที่สุด ซึ่งจากผลวิเคราะห์อิทธิพลจากการศึกษานี้ จะเห็นได้ว่าระดับสายเลือดที่มีความสมบูรณ์พันธุ์ที่ดีคือกลุ่ม>75-87.5% หากเราคำนึงถึงการให้ผลผลิตน้ำนมตามการยกระดับสายเลือดด้วย

อิทธิพลของกลุ่มระดับสายเลือดต่อลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบจากการศึกษานี้ พบว่าระดับสายเลือด ไม่มีอิทธิพลต่อการเกิดโรคเต้านมอักเสบ ซึ่งอาจเกิดจากจำนวนข้อมูลของประชากรที่ศึกษา ขนาดของประชากรที่ศึกษามีจำนวนน้อยเกินไป และลักษณะของค่าสังเกตที่นำมาวิเคราะห์แตกต่างจากการศึกษาอื่นๆ โดยข้อมูลที่นำมาวิเคราะห์นั้นมีการกระจายของข้อมูลเป็นแบบไม่ปกติ จึงมีผลทำให้ไม่พบอิทธิพล หรืออาจเกิดจากระดับสายเลือดนั้นไม่มีมีอิทธิพลต่อลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบจริง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของกัลยา เก่งวิกย์กรรม และคณะ (2549) ได้รายงานเพียงระดับสายเลือดที่แตกต่างกันมีผลต่อค่าเฉลี่ยของ SCS ที่เปลี่ยนแปลงไปแต่ไม่ได้แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2.7) ซึ่งยังให้ผลที่ไม่ชัดเจนว่าระดับสายเลือดนั้นมีอิทธิพลต่อการเกิดโรคเต้านมอักเสบ ดังนั้นควรมีการเพิ่มจำนวนตัวอย่างในแต่ละกลุ่มระดับสายเลือดให้มากขึ้น และควรมีการแปลงข้อมูลให้มีการกระจายเป็นแบบปกติก่อนทำการวิเคราะห์ผลด้วย

ตารางที่ 4.5 อิทธิพล (β) ของกลุ่มระดับสายเลือดต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ และการเกิดโรคเต้านมอักเสบในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน

BG (%)	ลักษณะ[(1)]					
	DO	**CI**	**NSC**	**AFC**	**MAST1**	**MAST2**
1	-48.881	-59.199	-0.775	-1.152	ns	ns
2	-11.031	-17.418	-0.124	1.154	ns	ns
3	-18.279	-37.965	-0.231	-1.994	ns	ns
4	2.129	8.724	0.521	-1.416	ns	ns
5	0	0	0	0	ns	ns

[(1)] DO = จำนวนวันท้องว่าง (วัน), CI = ช่วงห่างของการให้ลูก (วัน), NSC = จำนวนครั้งที่ผสมติด (ครั้ง), AFC = อายุเมื่อคลอดลูกตัวแรก (เดือน), MAST1 = การเกิดโรคเต้านมอักเสบรวมทั้งเป็นและไม่เป็น (เต้านม*วัน), MAST2 = การเกิดโรคเต้านมอักเสบเฉพาะตัวที่เป็น (เต้านม*วัน), BG = กลุ่มระดับสายเลือด : 1 คือ $\leq$50, 2 คือ >50-75, 3 คือ >75-87.5, 4 คือ >87.5-93.75 และ 5 คือ >93.75-100, ns คือไม่พบอิทธิพล

เมื่อนำค่าเฉลี่ยลีสท์สแควร์มาเปรียบเทียบในแต่ละกลุ่มระดับสายเลือด (ตารางที่ 4.6) พบว่าลักษณะ DO และ CI ระดับเลือดที่เพิ่มสูงขึ้นส่งผลให้ DO และ CI มีจำนวนวันที่เพิ่มขึ้น โดยกลุ่มที่ 1 มีค่า DO และ CI ต่ำสุดแต่ไม่แตกต่างจากกลุ่ม 2, 3 และมีค่าน้อยกว่ากลุ่ม 4, 5 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ สมเกียรติ ประสานพานิช และคณะ, 2542 ที่ระดับเลือด 50-87.5 ที่เพิ่มขึ้นนั้นส่งผล

ต่อ DO และ CI ที่เพิ่มสูงขึ้น และใกล้เคียงกับการศึกษาของ วิชัย ทิพย์วงค์, 2547 ที่เมื่อระดับสายเลือดเพิ่มสูงขึ้น ลักษณะ DO และ CI จะสูงขึ้นตามและจะเห็นความแตกต่างของแต่ละกลุ่มได้ชัดเจน (ตารางที่ 2.9) แต่จะแตกต่างจากการศึกษาของ อังค์วรา ศรีวิชัย และณัฐพล จงกสิกิจ, 2554 เมื่อระดับสายเลือดเพิ่มสูงขึ้น ลักษณะ DO และ CI นั้น กลับลดลง ลักษณะ NSC พบว่ากลุ่มที่ 1 มีค่าต่ำสุดแต่ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ 2, 3 ส่วนกลุ่มที่ 4 มีค่าสูงที่สุดแตกต่างจากกลุ่มอื่นๆ ส่วนกลุ่มที่ 5 ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ 2, 3 ซึ่งมีผลใกล้เคียงกับการศึกษาของ Konig et al. (2005) สำหรับลักษณะ AFC พบว่ากลุ่ม 2 มีสูงสุดแตกต่างจากกลุ่มอื่นๆ แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่ม 5 ส่วนกลุ่มอื่นๆ นั้นให้ค่าไม่แต่กต่างกัน ซึ่งตรงกันข้ามจากผลการศึกษาของ วิชัย ทิพย์วงค์, 2547 ที่มีลักษณะของค่าเฉลี่ยลีสท์สแควร์สูงขึ้นตามระดับสายเลือดที่เพิ่มสูงขึ้น

ตารางที่ 4.6 ค่าเฉลี่ยลีสท์สแควร์ (least square means, LSM±SE) ของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน เมื่อวิเคราะห์ตามกลุ่มระดับสายเลือด

BG (%)	ลักษณะ[(1)]			
	DO	CI	NSC	AFC
1	127.48±37.83[a]	388.66±39.89[a]	1.22±0.59[a]	31.54±0.63[a]
2	165.33±40.34[ab]	430.44±42.75[ab]	1.88±0.63[ac]	33.85±0.94[b]
3	158.08±40.94[ab]	409.89±43.37[ab]	1.77±0.64[ac]	30.70±0.94[a]
4	178.49±37.93[b]	456.58±40.39[b]	2.52±0.59[b]	31.28±0.69[a]
5	176.36±37.05[b]	447.86±39.38[b]	2.00±0.58[c]	32.69±0.50[ab]
P-value	0.046	0.003	0.001	0.031

[(1)] DO = จำนวนวันท้องว่าง (วัน), CI = ช่วงห่างของการให้ลูก (วัน), NSC = จำนวนครั้งที่ผสมติด (ครั้ง), AFC = อายุเมื่อคลอดลูกตัวแรก (เดือน), BG = กลุ่มระดับสายเลือด : 1 คือ ≤50, 2 คือ >50-75, 3 คือ >75-87.5, 4 คือ >87.5-93.75 และ 5 คือ >93.75-100

[abc] ตัวอักษรที่ต่างกันบนคอลัมน์เดียวกัน แสดงความแตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$)

4.3 ค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์

4.3.1 ค่าอัตราพันธุกรรม

ค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะ DO จากการศึกษานี้มีค่าเท่ากับ 0.02 (ตารางที่ 4.3) โดยใช้การวิเคราะห์ร่วมกันหลายลักษณะและมีปัจจัยเนื่องจากสภาพแวดล้อมถาวรร่วมวิเคราะห์ในโมเดล ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาของ Kandarmideen et al. (2003) ที่มีค่าเท่ากับ 0.028

เช่นเดียวกันกับการศึกษาของ วิชัย ทิพย์วงค์ (2547) ที่มีค่าเท่ากับ 0.054 ซึ่งสูงกว่าการศึกษานี้ ส่วนการศึกษาอื่นๆ ที่ใช้โมเดลแบบต่างๆ ในการวิเคราะห์ลักษณะนี้พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 0.023-0.067 (Veerkamp et al., 2001; Kandarmideen et al., 2003; Haile-Mariem et al., 2003; Gonzalex-Recio et al., 2006; Veerkamp and Beerda, 2007; Sun et al., 2009; Toghiani Pozveh et al., 2009)

ค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะ CI จากการศึกษานี้มีค่าเท่ากับ 0.03 (ตารางที่ 4.3) โดยใช้การวิเคราะห์ร่วมกันหลายลักษณะและมีปัจจัยเนื่องจากสภาพแวดล้อมถาวรร่วมวิเคราะห์ในโมเดล ซึ่งมีค่าสูงกว่าการศึกษาของ Kandarmideen et al. (2000) เล็กน้อยที่มีค่าเท่ากับ 0.022 เช่นเดียวกันกับการศึกษาของวิชัย ทิพย์วงค์ (2547) ที่มีค่าเท่ากับ 0.051 ซึ่งสูงกว่าการศึกษานี้ ส่วนการศึกษาอื่นๆ ที่ใช้โมเดลแบบต่างๆ ในการวิเคราะห์ลักษณะนี้พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 0.01-0.07 (Veerkamp et al., 2001; Veerkamp and Beerda, 2007; Sun et al., 2009; Toghiani Pozveh et al., 2009; Montaldo et al., 2010)

ค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะ NSC จากการศึกษานี้มีค่าเท่ากับ 0.14 (ตารางที่ 4.3) โดยใช้การวิเคราะห์ร่วมกันหลายลักษณะและมีปัจจัยเนื่องจากสภาพแวดล้อมถาวรร่วมวิเคราะห์ในโมเดล ซึ่งมีค่าสูงกว่าการศึกษาของวิชัย ทิพย์วงค์ (2547) ที่มีค่าเท่ากับ 0.041 ส่วนการศึกษาอื่นๆ ที่ใช้โมเดลแบบต่างๆ ในการวิเคราะห์ลักษณะนี้พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 0.01-0.04 (Kandarmideen et al., 2000; Veerkamp et al., 2001; Haile-Mariem et al., 2003; Windig et al., 2006; Gonzalex-Recio et al., 2006; Veerkamp and Beerda, 2007; Sun et al., 2009)

ค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะ AFC จากการศึกษานี้มีค่าเท่ากับ 0.15 (ตารางที่ 4.7) โดยใช้การวิเคราะห์ร่วมกันหลายลักษณะและไม่รวมปัจจัยเนื่องจากสภาพแวดล้อมถาวรร่วมวิเคราะห์ในโมเดล ซึ่งจากการรวบรวมเอกสารงานวิจัยพบว่าค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะนี้ค่อยข้างมีความพันแปรมาก โดยพบว่าการศึกษาของ Montaldo et al. (2010) ที่มีค่าเท่ากับ 0.28 การศึกษาของวิชัย ทิพย์วงค์ (2547) ที่มีค่าเท่ากับ 0.08 และการศึกษาของ Ojango and Pollot (2001) มีค่าเท่ากับ 0.38

จากผลการศึกษานี้พบว่า ค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะ DO และ CI ให้ผลสอดคล้องกับหลายการศึกษา และมีค่าอยู่ในช่วงของรายงานการศึกษา ขณะที่ลักษณะ NSC พบว่ามีค่าค่อนข้างสูงกว่าหลายการศึกษา ส่วนลักษณะ AFC พบว่ามีค่าค่อนข้างพันแปรมาก ผลที่ได้จึงไม่ค่อยสอดคล้องกับการศึกษาอื่นๆ มากนัก

4.3.2 ค่าอัตราซ้ำ

ค่าอัตราซ้ำของลักษณะ DO จากการศึกษานี้มีค่าเท่ากับ 0.018 พบว่ามีค่าต่ำกว่ามาก จากรายงานการศึกษาของ วิชัย ทิพย์วงค์ (2547); Kandarmideen et al. (2003) และ Toghiani Pozveh et al. (2009) ที่มีค่าอัตราซ้ำเท่ากับ 0.162, 0.047 และ 0.09 ตามลำดับ

ค่าอัตราซ้ำของลักษณะ CI จากการศึกษานี้มีค่าเท่ากับ 0.033 พบว่ามีค่าต่ำกว่าเล็กน้อยจากการศึกษาของ Kandarmideen et al. (2000) และ Kandarmideen et al. (2003) โดยมีค่าเท่า 0.049 และ 0.05 ตามลำดับ ขณะที่ผลการศึกษาของ วิชัย ทิพย์วงค์ (2547) และ Toghiani Pozveh et al. (2009) มีค่าเท่ากับ 0.157 และ 0.10 ซึ่งเป็นค่าอัตราซ้ำที่สูงกว่ามาก

ค่าอัตราซ้ำของลักษณะ NSC จากการศึกษานี้มีค่าเท่ากับ 0.208 พบว่ามีค่าค่อนข้างสูงกว่าผลการศึกษาอื่นๆ โดย วิชัย ทิพย์วงค์ (2547); Kandarmideen et al. (2000) และ Kandarmideen et al. (2003) รายงานว่ามีค่าอัตราซ้ำเท่ากับ 0.111, 0.032 และ 0.07 ตามลำดับ

ผลการศึกษาทั้งค่าอัตราพันธุกรรม และอัตราซ้ำของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์จากการศึกษานี้ จะเห็นได้ว่าบางลักษณะมีผลที่สอดคล้องกันกับผลการศึกษาอื่นๆ บางลักษณะมีผลค่อนข้างแตกต่างจากผลการศึกษาอื่นๆ ซึ่งความแตกต่างของค่าพารามิเตอร์นี้ เป็นผลเนื่องมาจากค่าเหล่านี้เป็นค่าที่เฉพาะต่อกลุ่มประชากรที่ศึกษา มีองค์ประกอบของความแปรปรวน และสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันไปในแต่ละกลุ่มประชากร จำนวนข้อมูลของประชากรที่ศึกษา ขนาดของประชากรที่ศึกษา ลักษณะของค่าสังเกตที่ใช้ ตลอดจนการใช้รูปแบบของโมเดลในการวิเคราะห์ก็มีผลเช่นเดียวกัน ที่ทำให้เกิดความแตกต่างของค่าพารามิเตอร์

ตารางที่ 4.7 ค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ ในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน

ลักษณะ[1]	ค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรม					
	σ_p^2	σ_e^2	σ_a^2	σ_c^2	h^2	t
DO	10054	9870	168	11.9	0.02	0.018
CI	11139	10800	354	8.83	0.03	0.033
NSC	2.64	2.09	0.36	0.19	0.14	0.208
AFC	33.81	28.9	4.92	0	0.15	-

[1] DO = จำนวนวันท้องว่าง (วัน), CI = ช่วงห่างของการให้ลูก (วัน), NSC = จำนวนครั้งที่ผสมติด (ครั้ง), AFC = อายุเมื่อคลอดลูกตัวแรก (เดือน)

4.3.3 ค่าสหสัมพันธ์

ค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลักษณะ DO กับ CI, NSC และ AFC มีค่าเท่ากับ 0.402, 0.220 และ -0.791 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.8) โดยลักษณะ DO กับ CI มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวกแต่อยู่ระดับปานกลาง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ วิชัย ทิพย์วงค์ (2547) และ Toghiani Pozveh et al. (2009) ที่มีทิศทางความสัมพันธ์กันในเชิงบวก แต่ค่าจากการศึกษานี้จะสูงกว่าการศึกษาของ Toghiani Pozveh et al. (2009) มีค่าเท่ากับ 0.111 และต่ำกว่าการศึกษาของวิชัย ทิพย์วงค์ (2547) มีค่าเท่า 0.994 ซึ่งมีความสัมพันธ์เชิงบวกที่สูงมาก ความสัมพันธ์ระหว่าง DO กับ NSC มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวกแต่ไม่สูงมากนัก ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของ Gonzalex-Recio et al. (2006) มีค่าเท่ากับ 0.71 ซึ่งมีความสัมพันธ์กันในเชิงบวกค่อนข้างสูง และการศึกษาของวิชัย ทิพย์วงค์ (2547) มีค่าเท่า 0.007 ซึ่งมีความสัมพันธ์กันในเชิงบวกแต่น้อยมาก ความสัมพันธ์ระหว่าง DO กับ AFC มีความสัมพันธ์กันในเชิงลบที่ค่อนข้างสูง ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของวิชัย ทิพย์วงค์ (2547) มีค่าเท่า 0.453 ที่มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวกระดับปานกลาง ความสัมพันธ์ระหว่าง CI กับ NSC มีค่าเท่ากับ 0.437 มีสัมพันธ์กันในเชิงบวกระดับปานกลาง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Kandarmideen et al. (2000) ที่มีค่าเท่ากับ 0.413 แต่แตกต่างจากการศึกษาของ วิชัย ทิพย์วงค์ (2547) ที่มีค่าเท่ากับ -0.087 ซึ่งมีทิศทางความสัมพันธ์ตรงกันข้าม ความสัมพันธ์ระหว่าง CI กับ AFC มีค่าเท่ากับ -0.758 มีสัมพันธ์กันในเชิงลบค่อนข้างสูง ซึ่งมีทิศทางตรงกันข้ามกับการศึกษาของ วิชัย ทิพย์วงค์ (2547) ที่มีค่าเท่ากับ 0.362 และ Montaldo et al. (2010) ความสัมพันธ์ระหว่าง NSC กับ AFC มีค่าเท่ากับ -0.195 มีสัมพันธ์กันในเชิงลบค่อนข้างต่ำ ซึ่งมีทิศทางตรงกันข้ามกับการศึกษาของ วิชัย ทิพย์วงค์ (2547) ที่มีค่าเท่ากับ 0.644

ค่าสหสัมพันธ์ของลักษณะปรากฏของลักษณะ AFC กับ DO, CI และ NSC มีค่าเท่ากับ 0.009, 0.018 และ 0.033 ตามลำดับ มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวกที่ต่ำมาก ซึ่งมีทิศทางตรงกันข้ามกับการศึกษาของ วิชัย ทิพย์วงค์ (2547) ที่มีค่าเท่ากับ -0.042, -0.055 และ -0.096 ความสัมพันธ์ระหว่าง NSC กับ DO และ CI มีค่าเท่ากับ 0.591 และ 0.614 มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวกระดับปานกลาง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ วิชัย ทิพย์วงค์ (2547) ที่มีค่าเท่ากับ 0.524 และ 0.520 ตามลำดับ และสอดคล้องกับการศึกษาของ Kandarmideen et al. (2000) ที่มีค่าเท่ากับ 0.691 ในลักษณะ NSC-CI ความสัมพันธ์ระหว่าง DO กับ CI มีค่าเท่ากับ 0.844 มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวกค่อนข้างสูง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ วิชัย ทิพย์วงค์ (2547) ที่มีค่าเท่ากับ 0.994

จากหลายการศึกษาจะเห็นได้ว่า ความสัมพันธ์ระหว่างบางลักษณะยังมีความผันแปรและแตกต่างกันอยู่ อาจเนื่องมากจากในแต่ละประชากรมีการคัดเลือกสัตว์ จากลักษณะที่แตกต่างกัน

มีการจัดการ และสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน จึงทำให้ส่งผลกระทบต่อค่าความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะที่แตกต่างกันออกไป

ตารางที่ 4.8 ค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (เหนือเส้นแนวทแยง) และค่าสหสัมพันธ์ของลักษณะปรากฏ (ใต้เส้นแนวทแยง) ของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน

ลักษณะ[(1)]	DO	CI	NSC	AFC
DO	1	0.402	0.220	-0.791
CI	0.844	1	0.437	-0.758
NSC	0.591	0.614	1	-0.195
AFC	0.009	0.018	0.033	1

[(1)]DO = จำนวนวันท้องว่าง (วัน), CI = ช่วงห่างของการให้ลูก (วัน), NSC = จำนวนครั้งที่ผสมติด (ครั้ง), AFC = อายุเมื่อคลอดลูกตัวแรก (เดือน)

4.4 ค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมของลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบ

4.4.1 ค่าอัตราพันธุกรรม

ค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบ ในการศึกษานี้มีค่าเท่ากับ 0.02 (ตารางที่ 4.9) วิเคราะห์โดย Animal model with repeated และมีปัจจัยเนื่องจากสภาพแวดล้อมถาวรเข้าร่วมวิเคราะห์ด้วย ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Heringstad et al. (2000) และ De Haas et al. (2008) ที่รายงานไว้ว่า หากประเมินค่าอัตราพันธุกรรมของ CM ด้วย linear methods จะมีค่าอัตราพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.02-0.03 ในขณะที่ประเมินด้วย threshold models ค่าอัตราพันธุกรรมจะอยู่ในช่วง 0.06-0.12 (Heringstad et al., 2000), 0.10 (Zwald et al., 2004), 0.085 (Heringstad et al., 2006) และจากผลการศึกษาอื่นๆ ที่ใช้ข้อมูล SCS จะพบค่าอัตราพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.02-0.19 (Heringstad et al.,2000; Heringstad et al., 2006; Windig et al., 2006; Holtsmark et al., 2008; De Haas et al., 2008; กัลยา เก่งวิกย์กรรม และคณะ, 2549)

4.4.2 ค่าอัตราซ้ำ

ค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบ ในการศึกษานี้มีค่าเท่ากับ 0.179 ซึ่งอยู่ในระดับต่ำ นั่นแสดงถึงว่าการแสดงออกของลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบในแต่ละครั้งมีความคล้ายคลึงกันต่ำ ทำให้ข้อมูลบันทึกแรกไม่สามารถนำไปใช้เป็นตัวบ่งชี้สำหรับบันทึกครั้งถัดไปได้ (ศุภมิตร เมฑฉาย, 2548)

จากผลการศึกษาค่าพารามิเตอร์ของลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบจะเห็นได้ว่ามีค่าทั้งที่สอดคล้องและไม่สอดคล้องกับการศึกษาอื่นๆ ความแตกต่างของค่าพารามิเตอร์เหล่านี้ เป็นผลเนื่องมาจากเป็นค่าที่เฉพาะต่อกลุ่มประชากรที่ศึกษา ซึ่งมีองค์ประกอบของความแปรปรวน และสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันไปในแต่ละกลุ่มประชากร จำนวนข้อมูลของประชากรที่ศึกษา รูปแบบของข้อมูลที่นำมาศึกษา ตลอดจนการใช้รูปแบบของโมเดลในการวิเคราะห์ ซึ่งปัจจัยที่สำคัญที่ทำให้เกิดความแตกต่างในการศึกษานี้มีการใช้ค่าสังเกตที่แตกต่างจากการศึกษาอื่นๆ โดยการศึกษานี้จะเก็บค่าสังเกตจากจำนวนเต้าและจำนวนวันที่เป็นมาคูณกันเป็นหน่วย เต้านม *วัน ส่วนการศึกษาอื่นๆ จะเก็บเป็นค่า Somatic cell Score หรือ Somatic cell count หรือ เก็บแบบเป็นไม่เป็น จากการเป็นโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ (CM)

ตารางที่ 4.9 ค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมของลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน

ลักษณะ[1]	ค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรม					
	σ_p^2	σ_e^2	σ_a^2	σ_c^2	h^2	t
MAST1	2530	2080	40.8	413	0.02	0.179

[1]MAST = การเกิดโรคเต้านมอักเสบรวมทั้งเป็นและไม่เป็น (เต้านม*วัน),

4.5 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับสายเลือดกับไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์

จากการวิเคราะห์ความน่าจะเป็นที่อัลลีลและจีโนไทป์ใดๆ ที่มีความสัมพันธ์กับระดับสายเลือด 50% ในโคนมลูกผสมโฮสไตน์ฟรีเชียนในไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์แต่ละตัว พบว่ามีไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์ 5 ตัวที่มีความหลากหลายของอัลลีล ได้แก่ BM2113, ETH152, ETH225, TGLA122 และ TGLA126 แต่มีเพียงอัลลีล B ของไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์ TGLA122 เท่านั้นที่มีความสัมพันธ์กับระดับสายเลือด 50% ในโคนมลูกผสมโฮสไตน์ฟรีเชียน โดยมีความน่าจะเป็น 91.83% ซึ่งเมื่อนำมาวิเคราะห์หาความน่าจะเป็นในรูปแบบ จีโนไทป์ พบว่ายีโนไทป์ BB มีความสัมพันธ์กับระดับสายเลือด 50% ในโคนมลูกผสมโฮสไตน์ฟรีเชียน โดยมีความน่าจะเป็น 96% (ตารางที่ 4.10)

จากการวิเคราะห์ความน่าจะเป็นที่อัลลีลและจีโนไทป์ใดๆ มีความสัมพันธ์กับระดับสายเลือด 75% ในโคนมลูกผสมโฮสไตน์ฟรีเชียน ในไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์แต่ละตัว พบว่ามีไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์ 4 ตัวที่มีความหลากหลายของอัลลีล ได้แก่ BM4305, ETH3,

ETH152 และ TGLA122 แต่ไม่พบว่าไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์ตัวใดๆ มีความสัมพันธ์กับระดับสายเลือดดังกล่าวนี้เลย (ตารางที่ 4.11)

จากการวิเคราะห์ความน่าจะเป็นที่อัลลีล และ จีโนไทป์ใดๆ มีความสัมพันธ์กับระดับสายเลือด 100% ในโคนมลูกผสมโฮสไตน์ฟรีเชียน ในไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์แต่ละตัว พบว่ามีไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์ 3 ตัวที่มีความหลากหลายของอัลลีล ได้แก่ BM4305, ETH3 และ TGLA122 และพบว่าอัลลีล C ของไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์ ETH3 และ TGLA122 มีสัมพันธ์กับโคนมโฮสไตน์ฟรีเชียนที่มีระดับสายเลือด 100% ที่ความน่าจะเป็น 91.95% และ 90.99% ($P<0.01$) ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามเมื่อนำมาวิเคราะห์หาความความสัมพันธ์ในรูปแบบยีโนไทป์แล้ว ไม่พบว่าไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์ทั้งสองตัวมีสัมพันธ์กับโคนมโฮสไตน์ฟรีเชียนที่มีระดับสายเลือด 100% แต่อย่างใด (ตารางที่ 4.12)

ตารางที่ 4.10 ความน่าจะเป็นที่อัลลีล และ จีโนไทป์ใดๆ มีความสัมพันธ์กับโคนมลูกผสมโฮสไตน์ฟรีเชียนที่มีระดับสายเลือด 50% ในแต่ละมาร์กเกอร์*

markers	allele				genotype			
	allele	P-value	exp (β)	Prob(%)	genotype	P-value	exp (β)	Prob(%)
BM2113	A	0.499	1.8	64.285	AA	0.837	1.2	54.545
	B	0.06	3.333	76.921	AB	0.999	4.864	82.946
ETH152	A	0.999	1.01	50.248	AB	0.999	1.292	56.369
	B	0.755	0.8	44.444	BB	0.999	9.573	90.541
ETH225	A	0.999	9.503	90.478	AA	0.999	7.573	88.335
	B	0.185	2.667	72.729	AB	0.999	4.039	80.154
TGLA122	A	0.396	0.59	37.106	AA	1	1.939	65.974
	B	0.003	11.25	91.836	AB	0.068	9.6	90.566
	C	0.001	0.026	2.5341	BB	0.005	24	96.000
TGLA126	A	0.281	0.257	20.445	AA	1	1.615	61.759
	B	0.672	1.842	64.813	BB	0.645	0.514	33.949

* แสดงเฉพาะ marker ที่มี polymorphism.

ตารางที่ 4.11 ความน่าจะเป็นที่อัลลีล และจีโนไทป์ใดๆ มีความสัมพันธ์กับโคนมลูกผสมโฮสไตน์ฟรีเชียนที่มีระดับสายเลือด 75% ในแต่ละมาร์กเกอร์*

markers	allele				genotype			
	allele	P-value	exp (β)	Prob(%)	genotype	P-value	exp (β)	Prob(%)
BM4305	A	0.999	9.503	95.03	AB	1	9.38	90.366
	B	0.93	0.895	89.50	AC	1	1.615	61.759
	C	0.93	0.895	89.50	BB	1	8.077	88.983
ETH3	A	1	9.231	92.31	AA	1	1.962	66.239
	C	0.004	0.126	12.60	AC	1	2.423	70.785
ETH152	A	0.127	0.162	13.941	AB	0.736	0.625	38.461
	B	0.087	0.292	22.600	BB	0.196	0.194	16.247
TGLA122	A	0.396	0.59	37.106	AB	0.2	0.312	23.780
	B	0.224	0.5	33.333	AC	0.115	0.208	17.218
	C	0.248	1.921	65.765	BB	0.064	0.25	20
					BC	0.223	0.208	17.218

*แสดงเฉพาะมาร์กเกอร์ที่มี polymorphism.

ตารางที่ 4.12 ความน่าจะเป็นที่อัลลีล และจีโนไทป์ใดๆ มีความสัมพันธ์กับโคนมโฮสไตน์ฟรีเชียนที่มีระดับสายเลือด 100% ในแต่ละมาร์กเกอร์*

markers	allele				genotype			
	allele	P-value	exp (β)	Prob(%)	genotype	P-value	exp (β)	Prob(%)
BM4305	A	0.509	0.385	27.797	AA	0.999	2.61	72.299
	C	0.174	5.571	84.781	AB	1	5.834	85.367
					AC	1	1	50
ETH3	A	1	6.628	86.890	AA	1	1.731	63.383
	C	0.001	11.424	91.951	AC	1	2.1	67.741
TGLA122	A	0.076	3	75	AB	0.659	0.643	39.135
	B	0.029	0.257	20.445	AC	0.06	6.75	87.096
	C	0.001	10.111	90.999	BB	0.066	0.113	10.152
					BC	0.142	6.75	87.096

*แสดงเฉพาะมาร์กเกอร์ที่มี polymorphism.

ความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากร

จากการคำนวณหาค่าเฮทเทอโรไซโกซิตี (Ho) พบว่าไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์ ETH152 มีความหลากหลายที่สูงพอสมควร และสูงที่สุดในกลุ่มไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์ที่ศึกษา ส่วนไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์ BM1824, BM2113, BM4305, ETH3, ETH225, ILST096, TGLA122 และ TGLA126 มีความหลากหลายทางพันธุกรรมที่ต่ำมาก (ตารางที่ 4.13)

ตารางที่.4.13 จำนวนอัลลีล, observed heterozygosity (Ho) ของแต่ละมาร์กเกอร์

Marker	No. alleles	Ho
BM1824	2	0.017857
BM2113	2	0.107143
BM4305	3	0.089286
ETH3	3	0.428571
ETH152	2	0.767857
ETH225	2	0.125
ILST096	2	0
TGLA122	3	0.303571
TGLA126	2	0

จากผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างระดับสายเลือดกับไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์ การที่เป็นดังนี้อาจเกิดได้จากการที่ตัวอย่างมีจำนวนน้อยเกินไป ทำให้ไม่พบความหลากหลายของอัลลีล ซึ่งสอดคล้องกับที่พบว่าความถี่ของเฮทเทอโรไซโกตต่ำ สัตว์ที่ได้ทำการสุ่มตัวอย่างมาอาจไม่มีส่วนของไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์นั้นๆ หรือมาร์กเกอร์ที่ทำการคัดเลือกมาอาจไม่มีความสัมพันธ์กับระดับสายเลือด ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาต่อไปโดยใช้จำนวนตัวอย่างให้มากขึ้น และอาจทดลองศึกษากับไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์ตัวอื่นๆ ร่วมด้วย

บทที่ 5
สรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

5.1.1 อิทธิพลของกลุ่มระดับสายเลือดต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์และการเกิดโรคเต้านมอักเสบ

ผลการวิเคราะห์อิทธิพล (β) และค่าเฉลี่ยลีสท์สแควร์ของกลุ่มระดับสายเลือดต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์และการเกิดโรคเต้านมอักเสบ พบว่าระดับสายเลือดมีอิทธิต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ แต่ไม่มีอิทธิพลต่อการเกิดโรคเต้านมอักเสบ โดยจะส่งผลให้มีความความสมบูรณ์พันธุ์ที่ลดต่ำลง เมื่อระดับสายเลือดเพิ่มขึ้น

5.1.2 การประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์

ค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ที่ศึกษาครั้งนี้ พบว่าลักษณะนี้มีอิทธิพลของพันธุกรรมอยู่ในระดับต่ำ โดย AFC มีค่าอัตราพันธุกรรมเท่ากับ 0.15 ลักษณะ DO, CI และ NSC มีค่าอัตราพันธุกรรมเท่ากับ 0.02, 0.03 และ 0.14 ตามลำดับ และมีค่าอัตราซ้ำเท่ากับ 0.162, 0.047 และ 0.09 ตามลำดับ ส่วนค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมพบว่า ลักษณะ AFC กับลักษณะ DO, CI และ NSC มีความสัมพันธ์กันในเชิงลบทุกลักษณะ (-0.791 ถึง -0.195) คือเมื่อ AFC น้อยลง จะทำให้ลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์อื่นๆ เพิ่มสูงขึ้น ลักษณะ NSC กับ DO และ CI พบว่ามีค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในเชิงบวก (0.220-0.437) คือเมื่อ NSC เพิ่มขึ้นจะทำให้ลักษณะ DO และ CI เพิ่มขึ้น และลักษณะ DO กับ CI มีค่าสหสัมพันธ์กันในเชิงบวก (0.402) คือเมื่อ DO เพิ่มจะทำให้ CI เพิ่มขึ้น ส่วนค่าสหสัมพันธ์ของลักษณะปรากฏ พบว่า ลักษณะ AFC กับลักษณะ DO, CI และ NSC มีความสัมพันธ์กันเพียงเล็กน้อย (0.009-0.033) คืออิทธิพลจากสิ่งแวดล้อมใดๆ ที่ส่งผลต่อ AFC ไม่มีผลหรือมีผลเพียงเล็กน้อยให้ ลักษณะ DO, CI และ NSC เปลี่ยนแปลง ลักษณะ NSC กับ DO และ CI พบว่ามีค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในเชิงบวก (0.591-0.614) คืออิทธิพลจากสิ่งแวดล้อมใดๆ ที่ส่งผลต่อ NSC ที่เพิ่มสูงขึ้นจะทำให้ DO และ CI เพิ่มสูงขึ้น และลักษณะ DO กับ CI มีค่าสหสัมพันธ์กันในเชิงบวก (0.844)

5.1.3 การประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมของลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบ

ค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมของลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบ พบว่ามีอิทธิพลของพันธุกรรมอยู่ในระดับต่ำ โดยมีค่าอัตราพันธุกรรม และอัตราซ้ำเท่ากับ 0.02 และ 0.179 ตามลำดับ

5.1.4 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับสายเลือดกับไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์

จากผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างระดับสายเลือดกับไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์ พบว่าไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์ TGLA122 มีความเป็นไปได้ที่จะใช้บ่งบอกโคนมลูกผสมโฮสไตน์ฟรีเชียนที่มีระดับสายเลือด 50% ได้ โดยมีความน่าจะเป็นของอัลลีล B และจีโนไทป์ BB เท่ากับ 91.83% และ 96% ตามลำดับ แต่ไม่พบว่ามีไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์ใดๆ ทั้ง 10 ตัวที่ศึกษาจะใช้บ่งบอกโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียนที่มีระดับสายเลือด 75% และ 100% ได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 หากคำนึงถึงการเลี้ยงโคนมแบบยกระดับสายเลือดร่วมด้วย เมื่อยกระดับสายเลือดให้เพิ่มสูงขึ้น โคจะมีความสามารถในการให้ผลผลิตน้ำนมได้เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งจะส่งผลต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ที่ลดต่ำลง จะเห็นได้ว่าผลจากการวิเคราะห์ครั้งนี้ กลุ่มระดับสายเลือดที่น่าจะเหมาะสมต่อการเลี้ยง คือกลุ่ม >75-87.5% โคโฮลสไตน์ฟรีเชียน เนื่องจากมีความสมบูรณ์พันธุ์ที่ไม่ต่ำจนเกินไป อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาในกลุ่มประชากรที่มีขนาดและจำนวนมากขึ้นเพื่อให้เห็นภาพของอิทธิพลของระดับสายเลือดต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ และการเกิดโรคเต้านมอักเสบที่ชัดเจนมากขึ้น

5.2.2 ลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ และลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบ ถึงแม้จะมีค่าอัตราพันธุกรรมที่ต่ำ แต่ยังควรมีการนำมาคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ เนื่องจากเป็นลักษณะที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะที่สำคัญทางเศรษฐกิจ คือ ผลผลิตน้ำนมในเชิงลบ ซึ่งในการคัดเลือกสัตว์ควรคำนึงความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะ และพิจราณาร่วมกันหลายลักษณะ เพื่อไม่ให้สูญเสียลักษณะใดลักษณะหนึ่งไป

5.2.3 จากผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างระดับสายเลือดกับไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์ ควรมีการศึกษาต่อไปโดยใช้จำนวนตัวอย่างให้มากขึ้น และอาจทดลองศึกษากับไมโครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์ตัวอื่นๆ ร่วมด้วย

รายการอ้างอิง

กัลยา เก่งวิกย์กรรม, ณรงค์กร เกษมสุข, วิบูรณ์ ตุลารักษา. (2549). การประเมินพันธุกรรมของค่าโซมาติกเซลล์ในน้ำนมของโคนมลูกผสมไทยโฮลสไตน์. **ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ครั้งที่ 32**. หน้า 173-178.

จินตนา ประดุจกาญจนา. (2553). **DNA กับงานนิติเวชศาสตร์ (DNA applications in forensic medicine)** [ออนไลน์]. ได้จาก: portal.in.th/files/5/3/1/2010/02/04/Book09_7.pdf. ค้นเมื่อ 17 ธันวาคม 2553.

ทัศนีย์ อภิชาติสรางกูร. (2544). ระบบสืบพันธุ์ในสัตว์เลี้ยง. **โรงพิมพ์มั่งเมือง อ.เมือง จ.เชียงใหม่.** หน้า 45-68, 205-218.

ธัชฎาพร ไชยคุณ, ศุภณิดา สุระวงศ์, ศุกลรัตน์ บุญยยาตรา และ วิทยา สุริยาสถาพร. (2548). ปัจจัยที่สัมพันธ์กับการเกิดเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการในแม่โครีดนมหลังคลอดในเขตพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่และลำพูน. **เชียงใหม่สัตวแพทยสาร.** 3:31-42.

ภคนิจ คุปพิทยานันท์. (2550). โรคที่สำคัญในโค, สุกร, สัตว์ปีก, การใช้ยาในสัตว์ . **เอกสารประกอบการสอนวิชา 303 413 Animal Hygiene and Disease Prevention มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.** หน้า 5-8.

มนต์ชัย ดวงจินดา. (2548). **การประเมินพันธุกรรมสัตว์.** ภาควิชาสัตว์ศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ . มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

วิชัย ทิพย์วงศ์. (2547). การประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน. **วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตมหาวิทยาลัยขอนแก่น.** ISBN 974-659-426-5.

ศุภณิดา สุระวงศ์, ธัชฎาพร ไชยคุณ, ศุกลรัตน์ บุณยยาตรา, ขวัญชาย เครือสุคนธ์ และ วิทยา สุริยาสถาพร.(2548). ปัจจัยที่สัมพันธ์กับปริมาณเซลล์โซมาติกในน้ำนมของแม่โครระยะท้ายการรีดนม. **เชียงใหม่สัตวแพทย์สาร.** 3:43-35.

ศุภมิตร เมฆฉาย. (2548). **เอกสารประกอบการสอนวิชาการปรับปรุงพันธุ์สัตว์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.** หน้า 44-63, 160-165.

สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ. [ออนไลน์] ได้จาก: www.dld.go.th

สมเกียรติ ประสานพานิช, ชลลดา รัตนวิเชียร และพีระ ไชยรุตต์. (2542). ผลผลิตและการสืบพันธุ์ของโคนมโฮลสไตน์ฟรีเชียนระดับเลือดต่างๆ ภายใต้การเลี้ยงขององค์การส่งเสริมกิจการ

โคนมแห่งประเทศไทย. **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 37** สาขาสัตว์แพทย์ศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สาทิส ผลภาค. (2551). คุณภาพน้ำนมดิบในประเทศระหว่างปี 2550-2551. ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตว์แพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน กรมปศุสัตว์. **จดหมายข่าวโคนม.**

สุภาวดี มานะไตรนนท์. (2545). **ความสัมพันธ์ของอัลลีล Bovine Lymphocyte Antigen DRB3 (BoLA-DRB3) กับการเป็นโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการในโคนม.** มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.หน้า 1-8

สุวิทย์ วุฒิสุทธิเมธาวี**.** (2546)**.** Microsatellites เครื่องหมายดีเอ็นเอสำหรับใช้ในการปรับปรุงพันธุ์กุ้งกุลาดำ. **ศูนย์พันธุ-วิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ**.

อมรรัตน์ โมพี และ มนต์ชัย ดวงจินดา. (มปป). **ยีนเครื่องหมายที่นิยมใช้ในการปรับปรุงพันธุ์สัตว์** [ออนไลน์]. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน และมหาวิทยาลัยขอนแก่น.

อังค์วรา ศรีวิชัย และ ณัฐพล จงกสิกิจ. (2554). ค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรม และปัจจัยที่มีผลต่อความสมบูรณ์พันธุ์ของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียนในฟาร์มโคนม มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. **วารสารวิจัยและส่งเสริมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้.** ปีที่ 28. ฉบับที่ 1. ISSN 0125-8850.

Blott, S. C., J. L. Williams, and C. S. Haley. (1999). Discriminating among cattle breeds using genetic Markers. **Heredity.** 82: 613-619.

Cervini, M., F. Henrigue-Silva, N. Mortari, and E. Matheucci. (2006). Genetic variability of 10 Microsatellite markers in the characterization of Brazillian Nellore cattle (Bos indicus). **Geneticsand Molecular Biology.** 29(3): 486-490.

Chebel, R. C. (2007). Mastitis effects on reproduction. **NMC Regional Meeting Proceeding.** 43-55.

Citek, J., L. Panicke, V. Rehout, and H. Prochazkova. (2006). Study of genetic distances between cattle Breeds Central Europe. **Czech J. Anim. Sci.** 51(10): 429-436.

Dalvit, C., M. De Marchi, R. Dal Zotto, M. Gervaso, T. Meuwissen, M. Cassandro. (2008). Breed Assignment test in four Italian beef cattle breed. **Meat Sci.** 80: 389-395.

De Haas, Y., W. Ouweltjes, J. ten Napel, J. J. Windig, and G. de Jong. (2008). Alternative Somatic Cell Count Traits as Mastitis Indicators for Genetic Seletion. **J. Dairy Sci.** 91-2501-2511.

Duangjinda, M., I. Misztal, and S.TSuruta. (2007). **BLUPF90-Dairy PAK3.0 Genetic Evaluation Program for Dairy Cattle.** Khon Kaen University and The University of Georgia.

González-Recio, O., R. Alenda, Y. M. Chang, K. A. Weigel, and D. Gianola. (2006). Selection for female fertility using censored fertility traits and investigation of the relationship with milk production. **J. Dairy Sci.** 89:4438-4444.

Gunay, A., U. Gunay. (2008). Effects of Clinical Mastitis on Reproductive Performance in Holstein Cows. **Acta Vet. Brno.** 77: 555-560.

Guo, J., X. Liu, A. xu and Z. Xia. (2010). Relationship of Somatic Cell Count with Milk Yield and Composition in Chinese Holstein Popusation. **Agricultural Sciences in China.** 9(10): 1492-1496.

Hagnestam-Nielsen, C., U. Emanuelson, B. Berglund, and E. Strandberg. (2009). Relationship between Somatic cell count and milk yield in different stages of lactation. **J. Dairy Sci.** 92: 3124-3133.

Haile-Mariam, M., J. M. Morton and M. E. Goddard. (2003). Estimates of genetic parameter for fertility traits of Australian Holstein-Friesian cattle. **J. Anim. Sci.** 76: 35-42.

Heringstad, B., D. Gianola, Y. M. Chang, J. Ødegård, and G. Klemetsdal. (2006). Genetic Associations Between Clinical Mastitis and Somatic Cell Score in Early First-Lactation Cows. **J. Dairy Sci**. 89: 2236-2244.

Heringstad, B., G. Klemetsda, and J. Ruane. (2000). Selection for mastitis resistance in dairy cattle: a review with focus on the situation in the Nordic countries. **Livestock Production Sci.** 64: 95-106.

Höglund, J. K., A. J. Buitenhius, B. Guldbrandtsen, G. Su, B. Thomsen, and M. S. Lund. (2009). Overlapping chromosomal regions for fertility traits and production traits in the Danish Holstein population. **J. Dairy Sci.** 92: 5712-5719.

Holtsmark, M., B. Heringstad, P. Madsen, and J. Ødegård. (2008). Genetic relationship between culling, Milk production, Fertiliy, and health traits in Norwegian Red Cows. **J. Dairy Sci.** 91: 4006-4012.

Juozaitiene, V., and A. Juozaitis. (2005). The influence of somatic cell count in milk on reproductive traits and production of Black-and-white cows. **Veterinarski Arhiv.** 75(5): 407-414.

Kadarmideen, H.N., R. Thompson, M. P. Coffey, and M. A. Kossaibati. (2003). Genetic parameter and evaluation form single-trait and multiple-trait analysis of dairy cow fertility and production. **Livest. Prod. Sci.** 81: 183-195.

Kadarmideen, H.N., R. Thompson and G. Simm. (2000). Linear and threshold model genetic parameters for desease, fertility and Milk production in dairy cattle. **J. Anim. Sci.** 71: 411-419.

Karthickeyan. S. M. K., S. N. Sivaselvam, R. Selvam, and P. Thangaraju. (2009). Microsatellite analysis of Kangayam cattle (Bos indicus) of Tamilnadu. **Indian Journal of Science and Technology.** Vol.2 No.10 ISSN 0974-6846.

Kengvikkum, K., and W. Tularaksa. (2008). DNA Fingerprint for Parentage analysis in Cattle. **J. Biotec. Liv. Prod.** Vol. 3 No.2 ISSN 1905-6877.

Konig, S., N. Chongkasikiit, and H. J. Langholz. (2005). Estimation of variance components for production and fertility traits in Northern Thai dairy cattle to define optimal breeding strategies. **Arch. Tierz., Dummerstorf** 48(3): 233-246.

Machado, M. A., I. Schuster, M. L. Martinez, and A. L. Campos. (2003). Genetic Diversity of four cattle Breed using microsatellite markers. **R. Bras. Zootec.** 32(1): 93-98.

MacHugh, D. E., M. D. Shriver, R. T. Loftus, P. Cunningham, and D. G. Bradley. (1997). Microsatellite DNA variation and the evolution, domestication and phylogeography of taurine and zebu cattle (Bos Taurus and Bos indicus). **Genetics.** 146(3): 1071-1086.

Marshall, R. T., and J. E. Edmodson. (1993). **Using the California Mastitis test.** University of Missouri.

Montaldo, H. H., H. Castillo-Juarez, M.Valencia-Posadas, E. G. Cienfuegos-Rivas and F. J. Ruiz-Lopez. (2010). Genetic and environmental parameters for milk production, udder health, and fertility traits in Mexican Holstein cows. **J. Dairy Sci.** 93: 2168-2175.

Ojango, J. M. K., and G. E. Pollott. (2001). Genetics of milk yield and fertility traits in Holstein Friesian cattle on large-scale Kenyan farms. **J. Anim Sci.** 79: 1742-1750.

Sun, C., P. Madsen, U. S. Nielsen, Y. Zhang, M. S. Lund, and G. su. (2009). Comparison between a sire Model for genetic evaluation of fertility traits in Danish Holstein population. **J. Dairy Sci.** 92: 4063-4071.

Thomas. N., and K. Anilkumar. 2008. Genetic characteristics of five microsatellite markers associated with Milk production traits in crossbred dairy cattle of Kerala. **Veterinary World.** 1(8): 245-247.

Toghiani Pozveh, S., A. A. Shadparvar, M. M. Shahrbabak and M. D. Taromsari. (2009). Genetic analysis of reproduction traits and their relationship with conformation traits in Holstein cow. **Livestock sci.** 125: 84-87.

Veerkamp, R. F.,vand B. Beerda. (2007). Genetics and genomics to improve fertility in high producing dairy cows. **Theriogenologe.** 68s: s266-s273.

Veerkamp, R. F., E. P. C. Koenen, and G. DeJong. (2001). Genetic correlation among body condition score, yield, and fertility in first-parity cows estimated by random regression models. **J. Dairy Sci.** 84: 2327-2335.

Windig, J. J., M. P. L. Calus, B. Beerda, and R. F. Veerkamp. (2006). Genetic Correlations Between Milk Production and Health and Fertility Depending on Herd Environment. **J. Dairy Sci.** 89: 1765-1775.

Zwald, N. R., K. A. Weigel, Y. M. Chang, R. D. Welper, and J. S. Clay. (2004). Genetic Selection for Health Traits Using Producer-Recorded Data. I. Incidence Rates, Heritability Estimates, and Sire Breeding Values. **J. Dairy Sci.** 87: 4287-4294.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาคผนวก ก.

ตัวอย่างข้อมูลที่ใช้ในการวิเคราะห์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตัวอย่างข้อมูลที่ใช้ในการวิเคราะห์

ตัวอย่าง Data file และ Pedigree file ที่ใช้ในการวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ทางพันธุ์กรรมของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์

Data file

ID	HYS	BG	Lact	AC	SC	DO	CI	NSC	AFC
133	225451	3	2	4	1	114	388	1	27.63
133	225451	3	3	5	1	0	742	0	0
135	225452	3	1	3	1	0	400	8	32.77
135	225452	3	2	4	1	192	466	2	0
136	225452	3	1	2	3	0	381	0	28.43
136	225452	3	2	3	3	165	432	2	0

Pedigree file

ID	SIRE	DAM	YEAR
3590	MEECHOK	D0393D1	2536
3601	LWGENERAL	F0312D1	2537
4009	FRANK	SK60082	2540
4022	ELUSIVE	ML55754	2540
4024	LINGO	8030	2540

หมายเหตุ : ID = หมายเลขตัวสัตว์, SIRE = พ่อพันธุ์, DAM = แม่พันธุ์, YEAR = ปีที่สัตว์เกิด , HYS = ฝูง, ปีและฤดูที่สัตว์เกิด , BG = กลุ่มระดับสายเลือดโคโฮลสไตน์ฟรีเชียน , Lact = ระยะการให้นม , AC = อายุเมื่อคลอดลูก , SC = ฤดูกาลที่คลอดลูก , DO = จำนวนวันท้องว่าง, CI = ช่วงห่างการให้ลูก, NSC = จำนวนครั้งที่ทำการผสมติด , AFC = อายุเมื่อคลอดลูกครั้งแรก

ตัวอย่าง Data file และ Pedigree file ที่ใช้ในการวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ทางพันธุ์กรรมของลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบ

Data file

ID	BY	BS	BG	Lact	SC	MAST	MY
125	2544	3	3	5	1	97	3870.90
125	2544	3	4	6	2	5	1579.60
126	2544	1	2	5	3	160	4466.00
131	2545	1	2	4	3	25	4869.70
133	2545	1	2	4	1	14	2431.40
133	2545	1	3	5	1	1	2005.10
133	2545	1	4	7	1	1	2507.60

Pedigree file

ID	SIRE	DAM	YEAR
119	AlindaSK	311	2542
120	AlindaSK	210	2543
123	HF025DLD	113	2544
124	Ratio	208	2544
125	Jubal	204	2544
126	Juriper	211	2544
127	Juriper	330	2544
129	BionicSK	204	2545

หมายเหตุ : ID = หมายเลขตัวสัตว์, SIRE = พ่อพันธุ์, DAM = แม่พันธุ์, YEAR = ปีที่สัตว์เกิด, BY = ปีที่สัตว์เกิด, BS = ฤดูกาลที่สัตว์เกิด, BG = กลุ่มระดับสายเลือดโคโฮลสไตน์ฟรีเซียน , Lact = ระยะการให้นม , SC = ฤดูกาลที่คลอดลูก , MAST = การเกิดโรคเต้านมอักเสบ (เต้านม*วัน), MY = ปริมาณน้ำนม

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตาราง ก.1 ตัวอย่าง data file ที่ใช้ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ ะหว่างระดับสายเลือดกับไมโ ครแซทเทลไลท์มาร์กเกอร์

ID	HF50	HF75	HF100	allele1	allele2	allele3	genotype
6319	1	0	0	0	1	0	BB
6301	1	0	0	0	0	1	CC
6303	1	0	0	1	1	0	AB
6304	1	0	0	0	1	0	BB
0220	0	1	0	1	1	0	AB
9204	0	1	0	1	1	0	AB
8215	0	1	0	0	1	0	BB
9209	0	1	0	0	0	1	CC
253004	0	0	1	0	0	1	CC
253003	0	0	1	0	0	1	CC
253001	0	0	1	1	1	0	AB
253502	0	0	1	1	0	1	AC
253002	0	0	1	1	1	0	AB

หมายเหตุ : ID = หมายเลขตัวสัตว์, HF 50 = โคโฮลสไตน์ฟรีเชียนที่มีระดับสายเลือด 50%, HF 75 = โคโฮลสไตน์ฟรีเชียนที่มีระดับสายเลือด 5%, HF 100 = โคโฮลสไตน์ฟรีเชียนที่มีระดับสายเลือด 100%,

ภาคผนวก ข.

ตัวอย่าง Parameter file ที่ใช้ในการวิเคราะห์

ตัวอย่าง Parameter file ที่ใช้ในการวิเคราะห์

ตัวอย่าง Parameter file ที่ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบความแปรปรวนของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์

```
DATAFILE
ReData.prn
NUMBER_OF_TRAITS
 4
NUMBER_OF_EFFECTS
 7
OBSERVATION(S)
6 7 8 9
WEIGHT(S)

EFFECTS: POSITIONS_IN_DATAFILE NUMBER_OF_LEVELS TYPE_OF_EFFECTS
1 1 1 1      46 cross
2 2 2 2      5 cross
3 3 3 0      11 cross
4 4 4 4      3 cross
10 10 10 0      1 cov
5 5 5 5      859 cross
5 5 5 0      859 859
RANDOM_RESIDUAL VALUES
100 50 40 70
50 95 90 80
40 90 95 90
70 80 90 150
RANDOM_GROUP
```

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

```
 6
RANDOM_TYPE

add_animal
FILE
RePEDF.prn
(CO)VARIANCES
70 9 13 7
9  60 12 8
13 12 10 9
7 8 9 9.3
RANDOM_GROUP
 7
RANDOM_TYPE
diagonal
FILE

(CO)VARIANCES
5 4 3 0
4 5 4 0
3 4 5 0
0 0 0 0
OPTION conv_crit 1d-08
```

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตัวอย่าง Parameter file ที่ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบความแปรปรวนของลักษณะการเกิดโรคเต้านมอักเสบ

```
DATAFILE
ReDATAM.prn
NUMBER_OF_TRAITS
1
NUMBER_OF_EFFECTS
 8
OBSERVATION(S)
 5
WEIGHT(S)

EFFECTS: POSITIONS_IN_DATAFILE NUMBER_OF_LEVELS TYPE_OF_EFFECTS
1 26 cross
2 6 cross
3 12 cross
6 1 cov
8 1 cov
4 1 cross
4 342 cross
4 342 cross
RANDOM_RESIDUAL VALUES
0.6
RANDOM_GROUP
 7
RANDOM_TYPE
add_an_upg
FILE
RePEDM.prn
(CO)VARIANCES
```

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

0.2

RANDOM_GROUP

8

RANDOM_TYPE

diagonal

FILE

(CO)VARIANCES

0.2

OPTION conv_crit 1d-08

ประวัติผู้เขียน

นางสาวรัตติกาล สุวรรณสิงห์ เกิดเมื่อวันที่ 21 มิถุนายน พ.ศ. 2529 ที่อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี สำเร็จการศึกษาชั้นประถมศึกษาปีที่ 1-6 ที่โรงเรียนอนุบาลมวกเหล็ก ชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 1-6 ที่โรงเรียนมวกเหล็กวิทยา จังหวัดสระบุรี และสำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนลียีการเกษตร ที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา เมื่อปี พ.ศ. 2551 จากนั้นเข้าศึกษาต่อระดับปริญญาโท สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนลียีการเกษตร ที่ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา เมื่อปี พ.ศ. 2552

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี